



# Sensorische und aktorische Anwendungen akustischer Oberflächenwellen

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades  
der mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät der  
Universität Augsburg

vorgelegt von

Jürgen Neumann

Augsburg, 22. Juni 2009

Gutachter:  
Prof. Dr. Achim Wixforth  
Prof. Dr. Joachim Rädler

Tag der mündlichen Prüfung:  
31. Juli 2009

# Zusammenfassung

Für das Verständnis von biologischen Membranen ist die Entschlüsselung der physikalischen Interaktion zwischen Biomembran und Umgebung unerlässlich. Aus der komplexen Vielfalt dabei auftretender Fragestellungen wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit der Fokus auf die Wechselwirkung zwischen Festkörpern und Phospholipid-Membranen gelegt. Diese selbstorganisierten Membranen bilden ein leicht zugängliches und adaptierbares biophysikalisches Modellsystem.

Den Schwerpunkt der Untersuchungen bildeten Messungen an eigenen Aufbauten zur Sensorik und Aktorik mittels akustischen Oberflächenwellen (SAWs). Diese Methode zeichnet sich durch hohe Empfindlichkeit bezüglich Veränderungen der Grenzflächeneigenschaften, wie z.B. Änderungen der dielektrischen Größen aus. Die Membranbildung auf Festkörpern kann dabei über die Anlagerung und das Spreiten kleinster unilamellarer Vesikel erfolgen und zeitaufgelöst über mehrere Stunden verfolgt werden. An den so erzeugten Membranen war die exemplarische Untersuchung vom Membran - Nanopartikel Wechselwirkungen möglich. Die SAW-Sensorik erlaubt insbesondere die markerfreie Detektion von Veränderungen an der Substratoberfläche. Durch den experimentellen Vergleich ergibt sich die Möglichkeit Rückschlüsse darauf zu ziehen, welche Auswirkungen allein aus der Variation der Zusammensetzung, beispielsweise bei der Zugabe von Wirkstoffen oder Salzen resultieren. Kontrollexperimente wurden mittels differenzieller Kalorimetrie durchgeführt und bestätigten beispielsweise die Veränderungen der Eigenschaften durch den Einsatz von Tensiden.

Phasenübergängen in biologischen Membranen wird eine Schlüsselrolle bezüglich dem Verständnis von Stoffwechselvorgängen und der Anpassung an geänderte Umgebungsbedingungen zugeschrieben. Mittels Oberflächenwellensensorik konnte der Phasenübergang der etwa 4 Nanometer dicken Lipidmembran aus DMPC auch am festkörpergestützten Membransystem gezeigt werden. Die Ergebnisse demonstrieren, dass die Einsatzmöglichkeiten des Sensorsystem weit über reine Anlagerungsmessungen hinausgehen. SAW-Sensoren sind in der Lage auch strukturelle Veränderungen der Substratoberfläche zu erfassen.

Durch die Kombination von Scherwellen-Chipsubstraten und hochauflösender Fluoreszenzmikroskopie konnte erstmals gezeigt werden, dass die Wechselwirkung von stehenden Oberflächenwellen und Membran zu einer dynamischen Entmischung führt. Lipidgebundene Farbstoffmoleküle reichern sich in den energetisch vorteilhaften, streifenförmigen Bereichen an und signalisieren die Zustandsänderung der Membran. In Folgeexperimenten konnte dies gleichfalls zur Ansammlung und Ausrichtung membrangebundener Makromoleküle

benutzt werden kann. Dies geht weit über die in der Literatur bekannten Anwendungen der reinen Flüssigkeitssensorik sowie der Aktorik zum Durchmischen, Sortieren und Fokussieren von in Flüssigkeit befindlichen Partikeln hinaus und kann vielmehr als neue Methode zur zeitlichen und räumlichen Manipulation weicher Nanofilme auf molekularer Ebene verstanden werden. Die Entstehung und der Zerfall quasi beliebig generierbarer Muster bieten einen neuen Einblick in das Membransystem und liefern Zugang zur Untersuchung intermolekularer Wechselwirkungen.

Während im Bereich der Flüssigkeitssensorik vorwiegend Scherwellensubstrate zum Einsatz kommen, kann die starke Dämpfung, welche Rayleighwellen erfahren, anderweitig ausgenutzt werden: Rayleighwellen sind durch eine senkrecht zur Oberfläche wirkende Bewegungskomponente gekennzeichnet, und können zur effizienten Anregung mikrofluidischer Strömungen genutzt werden. Die Entwicklung einer auf diesem Prinzip beruhenden mikrofluidischen Kammer ermöglichte die Untersuchung des Adhäsionsverhaltens von funktionalisierten Mikropartikeln an Zelloberflächen. Experimente unter variablen Flussbedingungen zeigten, dass die auftretenden Scherraten signifikanten Einfluss auf das Adhäsionsverhalten der Partikel ausüben.



# Inhaltsverzeichnis

<b>Zusammenfassung</b>	<b>v</b>
<b>1 Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2 Modellsystem Phospholipidmembran</b>	<b>4</b>
2.1 Membranen & Phospholipide . . . . .	4
2.2 Membranherstellung . . . . .	6
2.2.1 Kleine unilamellare Vesikel (SUVs) . . . . .	6
2.2.2 Festkörpergestützte Lipidmembranen . . . . .	6
2.2.3 Physikalische Eigenschaften . . . . .	7
<b>3 Experimentelle Untersuchungsmethoden</b>	<b>10</b>
3.1 Akustische Oberflächenwellen auf piezoelektrischen Substraten . .	10
3.1.1 Grundlagen der akustischen Wellenausbreitung in Festkörpern . . . . .	10
3.1.2 Stimulationsmodell . . . . .	14
3.1.3 Elektrisches Ersatzschaltbild der IDTs . . . . .	18
3.2 Zeitaufgelöste Sensorik mit akustischen Oberflächenwellen . . . . .	19
3.2.1 Sensormodell und Akustoelektrische Dämpfung . . . . .	21
3.2.2 Charakterisierung von Sensor und Messaufbau . . . . .	27
<b>4 Sensorik an Lipidmembranen</b>	<b>38</b>
4.1 Zeitliche Entwicklung der Membranentstehung . . . . .	38
4.1.1 CTAB . . . . .	41
4.1.2 Phasenumwandlungen . . . . .	43
4.1.3 Bindungsphänomene und Membran-Nanopartikel Wechselwirkung . . . . .	46
4.1.4 Software Phasenregelung . . . . .	47
4.1.5 Sensitiver Bereich vs. ganzer Chip . . . . .	50
4.1.6 Zusammenfassung und Bewertung . . . . .	51
<b>5 Akustische Oberflächenwellen für aktorische Anwendungen</b>	<b>53</b>
5.1 Stehende Oberflächenwellen . . . . .	54
5.1.1 Erzeugungsprinzip und Aufbau . . . . .	55
5.1.2 Visualisierung stehender Oberflächenwellen durch Raster-Kraft-Mikroskopie . . . . .	56

5.2	Dynamische Musterbildung in festkörpergestützten Membranen . . . . .	61
5.2.1	Musterbildung und lokale Temperatur . . . . .	71
5.2.2	Simulation der Musterbildung auf Monolayern . . . . .	74
5.2.3	Musterzerfall und q-Raum . . . . .	74
5.2.4	Mobile Entmischung . . . . .	76
5.2.5	Dielektrophorese . . . . .	77
5.2.6	Ansammlung und Ausrichtung membrangebundener Makromoleküle . . . . .	81
5.3	Oberflächenwellen in der mikrofluidischen Anwendung . . . . .	81
<b>6</b>	<b>Ausblick</b>	<b>92</b>
<b>A</b>	<b>Herstellung kleiner unilamellarer Vesikel (SUVs)</b>	<b>95</b>
A.1	Vorbereitung der Lösungen . . . . .	95
A.2	Herstellung MUVs . . . . .	95
A.3	SUV-Herstellung . . . . .	96
<b>B</b>	<b>Elektronenstrahlolithographie</b>	<b>97</b>
<b>C</b>	<b>Optische Lithographie</b>	<b>98</b>
<b>D</b>	<b>Metallisierung</b>	<b>99</b>
<b>E</b>	<b>Danksagung</b>	<b>110</b>

# Kapitel 1

## Einleitung

Die Abbildung natürlicher Vorgänge auf ein vereinfachtes, aber dennoch aussagekräftiges Modell, ist eine allen naturwissenschaftlichen Arbeiten zugrunde liegende zentrale Aufgabe. Immer wird dabei die Zahl der Freiheitsgrade, d.h. der unbekannten Variablen, auf ein überschaubares Maß reduziert. Dabei wird davon ausgegangen, dass diese Reduktion keine Einschränkung der Allgemeingültigkeit darstellt. Ähnlich wie bei mathematischen Problemen, bei denen sich eine allgemeine Lösung aus der Superposition verschiedener spezieller Lösungen konstruieren lässt, kommt dieses Prinzip auch bei biophysikalischen Fragestellungen zum Einsatz. In Biologie und Medizin wurden in vergangenen Zeiten häufig lediglich Beobachtungen aneinandergereiht um zur Lösung des Puzzles zu gelangen, ohne dass es dabei möglich war, die Komplexität der ineinandergreifenden Formen zu verstehen. Nach und nach gelingt es mittels Methoden der modernen Chemie und der Physik einzelne Teile zu separieren und spezielle Lösungen zu analysieren. Gleichzeitig bedeutet dies, dass nur im Austausch zwischen Medizin, Biologie und Naturwissenschaften die Einzelergebnisse zur Deckung gebracht und die Rätsel der Natur erschlossen werden können. Für den Physiker eröffnet sich damit eine Welt neuer faszinierender Materialien.

Begibt man sich auf die zelluläre Skala, findet sich auch hier eine unübersehbar große Anzahl komplexer Vorgänge. Selbst auf der Ebene der Zellmembran, sind viele Prozesse, z.B. Adhäsions- und Transportvorgänge, im Detail unverstanden. Ein physikalisches Modell bzw. ein Experiment muss deshalb zwangsläufig viele Aspekte unberücksichtigt lassen und kann nur zur Antwort spezieller Fragestellungen beitragen. Für die Zellmembran bedeutet diese Modellbildung im ersten Schritt die Reduktion auf den wesentlichen Membranbestandteil - die Doppelschicht (Bilayer) aus Phospholipiden, die das Zellinnere von ihrer Umgebung trennt. Erst wenn die Lipidmembran alleine nicht mehr ausreicht, die beobachteten Phänomene der Zellmembran zu erklären, ist man gezwungen das

System zu erweitern und neue Komponenten einzuführen[63]. Trotz dieser starken Vereinfachung lassen sich bereits an diesem System relevante Adhäsions-, Transport- und Diffusionsprozesse untersuchen [81].

Den thematischen Einstieg bildet Kapitel 2. Hier werden die zum Verständnis für Biomembranen notwendigen Grundlagen zusammengefasst sowie Herstellungsverfahren und physikalische Eigenschaften beschrieben. Üblicherweise werden zur Beobachtung biologischer Vorgänge Fluoreszenzfarbstoffe in die Membran oder die wechselwirkenden Bestandteile eingebaut. Diese Farbstoffe unterscheiden sich zwangsläufig in Größe, Form und chemischen Eigenschaften vom Zielsystem und führen zur Veränderung der Vorgänge. In der vorliegenden Arbeit wurde deshalb ein Verfahren eingesetzt, welches nicht auf fluoreszenzmikroskopischer Auswertung beruht, gleichzeitig jedoch extrem sensitiv auf Veränderungen an der Substratgrenzfläche reagiert: Akustische Oberflächenwellen (SAWs). Die Untersuchung mittels SAWs beruht auf der Wechselwirkung der Schallausbreitung an Grenzflächen mit dem angrenzenden Medium. Diese Wechselwirkung kann beispielsweise rein mechanischer Art sein, der viskoelastischen Kopplung von Medium und Substrat, oder auch über die Änderung der dielektrischen Eigenschaften des Mediums erfolgen. Die sich ausbreitende Schallwelle kann dadurch frequenzabhängig gedämpft und verzögert werden. Ausgehend von der Beschreibung seismischer Wellenmoden durch Lord Rayleigh (1855) [72] und deren technische Anwendbarkeit durch elektro-akustische Wandler, auf piezoelektrischen Substraten durch White und Voltmer (1965) [98] wurde diese Technik schnell für den Bereich der mobilen Kommunikation[44] aber auch der Gas- und Flüssigkeitssensorik [27, 99, 29, 50] erkannt und kann heute in den beiden letztgenannten als hochauflösende Weiterentwicklung klassischer Sauerbrey-Schwingquarz-Mikrowaagen [82] (engl. *quartz crystal microbalance - QCM*) aufgefasst werden.

Beginnend mit der Beschreibung der Grundzüge akustischer Oberflächenwellen werden in Kapitel 3.2 die Wechselwirkungsmechanismen und die verwendeten Messprinzipien vorgestellt. Anschließend wird der Fokus auf Experimente zur Membranentstehung, den Phasenumwandlungen bei festkörpergestützten Membranen, der Membran-Tensid und Membran-Partikel Wechselwirkung gelegt sowie Kontrollexperimente mittels differenzieller Mikrokolorimetrie vorgestellt.

Die Kopplung zwischen Oberflächenwelle und Membran bietet neben dem Einsatz als Sensor ausserdem die Möglichkeit die Membranzusammensetzung aktiv zu beeinflussen. Mit Hilfe stehender akustischer Oberflächenwellen konnte erstmals eine reversible dynamische Entmischung membrangebundener Farb-

stoffmoleküle gezeigt werden. Gleichzeitig ist durch diese Methode eine Ansammlung und Ausrichtung membrangebundener DNA möglich. Kapitel 5 bietet hierzu eine ausführliche Beschreibung, die Experimente werden aufgezeigt und diskutiert.

Den Abschluss dieser Arbeit bildet mit Kapitel 5.3 ein Einblick in die Möglichkeit akustische Oberflächenwellen zur Strömungserzeugung in mikrofluidischen Systemen auszunutzen. Das sogenannte *acoustic streaming* liefert eine effiziente Möglichkeit der Strömungsgeneration in kleinsten Flüssigkeitsmengen und ist somit ideal für Chip-Applikationen [100, 84]. Ein eigener Aufbau lieferte hierbei die Möglichkeit zur Untersuchung des Adhäsionsverhaltens von funktionalisierten Mikropartikeln an Zelloberflächen unter Flussbedingungen, wobei signifikante Unterschiede zwischen den statischen Messungen und den Messungen im Fluss auftraten. Dies läßt den Schluss zu, dass die Mikrofluidik ein weit realitätsnaheres Modellsystem bietet, als dies statische *in vitro* Untersuchungen zulassen.

## Kapitel 2

# Modellsystem Phospholipidmembran

### 2.1 Membranen & Phospholipide

Künstlich erzeugte Biomembranen sind heute ein universelles Modellsystem der Lebenswissenschaften. Mit der gezielten Anpassung der Membraneigenschaften ist es möglich einfache Modelle von Zelloberflächen zu erstellen und komplexe biologische Vorgänge zu entschlüsseln. Festkörpergestützte Biomembranen dienen heute zur Biofunktionalisierung anorganischer Festkörper [81], als Template für Halbleiterstrukturen und als Biosensoren.

Obwohl *Benjamin Franklin* bereits im Jahr 1774 dünne Ölfilme beobachtete und vorschlug, mit diesen die rauhe See zu glätten [75], dauerte es bis zum Ende des 19. Jahrhunderts, bis osmotische Effekte und semipermeable Membranen systematisch untersucht wurden. *Lord Rayleigh* wird dabei die Erkenntnis zugeschrieben, dass die Dicke von Ölfilmen durch die Dicke der noch unbekannten Moleküle begrenzt sei. Erst *Charles Ernest Overtons* Untersuchungen lieferten 1895 den Hinweis darauf, dass es sich bei Zellmembranen um öl-ähnliche Substanzen handelt, die er als *Lipoid*e bezeichnete [14, 36]. Heute ist bekannt, dass Phospholipide, wie z.B. das in Abbildung 2.1 gezeigte 1,2-dihexadecanoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DPPC), die Grundbausteine biologischer Membranen bilden. Durch ihre Molekülstruktur bilden sie eine vergleichsweise hohe Elektrodendichte in der Kopfgruppe aus, siehe z.B. rechte Seite der Abbildung 2.3. Dies führt zur elektrischen Polarisierung des Moleküls und zur Ausbildung ihres amphiphilen Charakters. Gelöst in Wasser, ordnen sich diese Moleküle in selbstorganisierenden Prozessen durch Minimierung ihrer freien Energie. Die Moleküle bestreben dabei, sich so auszurichten, dass die polare Kopfgruppe zum Wasser hin weist und der Kontakt des hydrophoben Kohlenwasserstoffrests zum

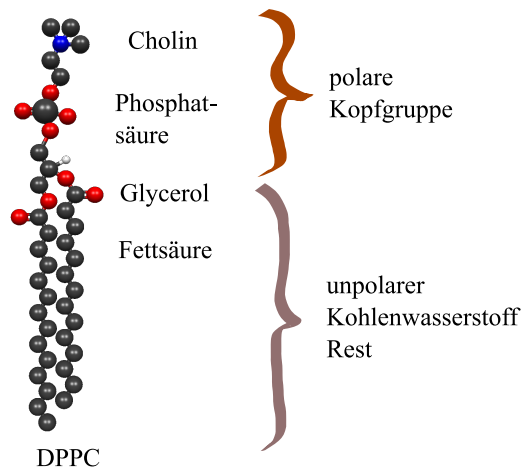


Abbildung 2.1: Molekülstruktur von 1,2-dihexadecanoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DPPC) einem typischen Vertreter der Phosphocholine. Kohlenstoff = grau (klein) , Sauerstoff = rot, Stickstoff = blau und Phosphor = grau (groß).

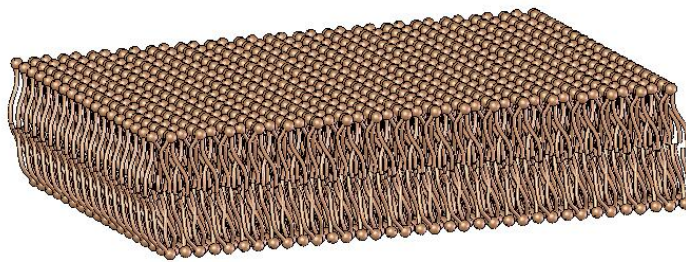


Abbildung 2.2: Skizze eines planaren Lipid-Bilayers, bestehend aus zwei gegenüberliegenden Monolayern. Die Kopfgruppen der Lipide weisen nach außen, das umgebende Wasser ist nicht dargestellt.

Wasser minimiert wird. Konzentrationsabhängig können sich vielfältige Formen ausbilden. Im Gegensatz zu einfachen Fettsäuren besitzen Phospholipide zwei Kohlenwasserstoff-Restgruppen. Dies führt einerseits zu einer stark verringerten Wasserlöslichkeit und andererseits zu einer zylinderförmigen Gestalt des Moleküls. Bei ausreichendem Wasseranteil bilden Phospholipide deshalb lamellare Membranen aus. Fettsäuren hingegen neigen durch ihre Molekülgestalt zur Mizellenbildung [80]. Biologische Membranen bestehen aus einer Vielzahl, manche aus 150-200 chemisch verschiedenen Lipidmolekülen [52]. Der genaue Grund für diese Diversifikation ist unklar, man weiss jedoch, dass manche Zellen in der Lage sind, ihre physikalischen Eigenschaften durch Veränderung der Lipidzusammensetzung an geänderte Umgebungsbedingungen anzupassen [36]. Hauptbestandteile biologischer Membranen sind neben dem gezeigten Vertreter der Phos-

phatidylcholine, Phosphatidylethanolamine, Phosphatidylserine und Phosphatidylglycerole, jeweils mit unterschiedlichen Kettenlängen. Vergleicht man die Lipid-Zusammensetzung unterschiedlicher Organellen nehmen die beiden erstgenannten die Spitzenpositionen ein. Die Untersuchung in Erythrozyten zeigte, dass vor allem Phosphatidylcholine mit 16:0, 18:0, 16:1 und 18:1 Kohlenwasserstoffketten<sup>1</sup> dominieren [55].

## 2.2 Membranherstellung

### 2.2.1 Kleine unilamellare Vesikel (SUVs)

Wird reichlich Wasser zu eingetrockneten Phospholipiden gegeben, so kommt es bei der Hydratisierung zur Selbstorganisation der amphiphilen Moleküle in lamellaren Bilayer-Strukturen (*hydrophober Effekt*), die durch zwischenliegende Wasserschichten separiert werden. Die Wasserschichten vermitteln zwischen den repulsiven und attraktiven Kräften. Es entstehen zum Teil millimetergroße Gebilde, die als 'Flockenbildung' in der wässrigen Umgebung zu sehen sind. Eine Umstrukturierung in kleine, kugelförmige Anordnungen mit höherer Oberflächenspannung und niedrigerer Entropie kann nur unter Energiezufuhr stattfinden, wobei die vorliegenden Strukturen zerteilt und die Lipide dispergiert werden. Dieser Prozess erfolgt üblicherweise entweder im Ultraschall-Rüsselbeschaller<sup>2</sup> oder dadurch, dass die Lösung mehrfach durch nanoskalige Membranen gepresst wird<sup>3</sup>. Die Lipide ordnen sich anschließend in Form von Kugelschalen mit 50-100nm Durchmesser neu an. Die Schale besteht wiederum aus einem Bilayer und trennt die innere Flüssigkeit von der Umgebung. Diese neue Anordnung stellt einen metastabilen Zustand dar, abhängig von den Umgebungsbedingungen wandeln sich die SUVs innerhalb von Tagen bis Wochen [51] wieder in multilamellare Strukturen um.

### 2.2.2 Festkörpergestützte Lipidmembranen

Zur Herstellung von planaren, festkörpergestützten Phospholipidmembranen sind in der Literatur viele verschiedene Verfahren beschrieben. Es finden sich darunter beispielsweise die *Langmuir-Blodgett* und *Langmuir-Schäfer* Technik zur Übertragung von Mono- bzw. Doppellagen-Membranen von der Flüssigkeits-Luft Grenzschicht auf ein Substrat, *Spin-coating*-Verfahren sowie Methoden

---

<sup>1</sup>Erklärung der Bezeichnung: Anzahl C-Atome:Anzahl Doppelbindungen

<sup>2</sup>*tip sonicator*

<sup>3</sup>Daneben existieren noch eine große Zahl weiterer Methoden und Abwandlungen. Beispielsweise die Herstellung mit Tintenstrahldruckern, siehe [35]. Für einen Überblick, siehe beispielsweise [51] oder [96]



über Eintrocknen und Quellen der Phospholipide, zur Herstellung von Multilagen-Membranen [83]. In der vorliegenden Arbeit wurde ausschließlich das sogenannte *Vesikel-Spreiten* benutzt. Bei diesem Verfahren, welches in den 1980er Jahren von *McConnell* und *Brian* entwickelt wurde [10, 58], befinden sich kleine unilamellare Lipidvesikel (SUVs), siehe Kapitel 2.2.1, in einer Flüssigkeit. Diese lagern sich an hydrophilen Oberflächen an, und platzen aufgrund ihrer zunehmenden Oberflächenspannung auf. In einem selbstorganisierenden Prozess bildet sich ein Bilayer aus. Die so beschichtete Oberfläche verhindert ein weiteres Anlagern.

### 2.2.3 Physikalische Eigenschaften

Im folgenden wird eine Übersicht über die wichtigsten Eigenschaften der Phospholipide, bzw. der aus ihnen entstehenden Membranen gegeben. Obwohl eine detaillierte Behandlung weit über den Rahmen dieser Arbeit hinausgeht, vgl. [12], soll ein Eindruck über die wichtigsten Merkmale entstehen und zum Verständnis der Experimente beitragen.

Die Dicke einer Lipid-Doppelschicht, wie sie in Abbildung 2.3 skizziert ist, beträgt typischerweise etwa 45-50 Å. Dabei ist die Annahme, die Dicke sei gleich der doppelten Moleküllänge nur eine erste, grobe Näherung. Temperaturabhängig bilden sich beispielsweise verschiedene Konformationen der Membran aus, die als Phasenzustände bzw. Phasen bezeichnet werden. Je nach Phase kann dem Membranlipid eine unterschiedliche Fläche bzw. Dicke zuerkannt werden. Zusätzlich ergibt sich die Frage, wodurch sich die Dicke der Membran definiert, z.B. durch den mittleren Kopf-Kopf-Abstand ( $D_{HH}$ ), den erweiterten Kopf-Kopf-Abstand ( $D_{B'}$ ) oder z.B. den Abstand inklusive membrangebundener Hydrathülle. Einen übersichtlichen Einblick in diese Fragestellungen geben beispielsweise *Nagle & Tristram-Nagle* in ihrem Review-Artikel *Structure of lipid bilayers* [62], in welchem sie auch die Ergebnisse verschiedener Methoden vergleichen. Eine umfangreiche Datensammlung zu Bilayern aus verschiedenen Lipiden findet man beispielsweise auch in [70]. Je nach Lipid und Umgebungsbedingungen bilden sich bei genügend vorhandenem Wasser verschiedene lamellare Phasen aus. Im Allgemeinen werden vier solcher Zustände unterschieden: In der kristallinen Phase (*liquid crystalline*,  $L_c$  bzw.  $L_\beta$ ) befinden sich die Lipide in einem dicht gepackten, geordneten Zustand, die C-Ketten liegen dabei in *trans* Konfiguration. In der sogenannten Gel-Phase (*gel-phase*, *solid ordered phase*,  $L_{\beta'}$ ) ist die C-Kettenausrichtung nicht mehr senkrecht zur Membranoberfläche. Die Stärke dieser Veränderung ist lipidspezifisch. Die Rippel-Phase (*ripple phase*,  $P_{\beta'}$ ) zeigt eindimensionale Streifenmuster, deren Ursprung in verschiedenen Phasendomänen vermutet werden[36]. Die Fluide-Phase (*fluid phase*,  $L_\alpha$ ) ist die

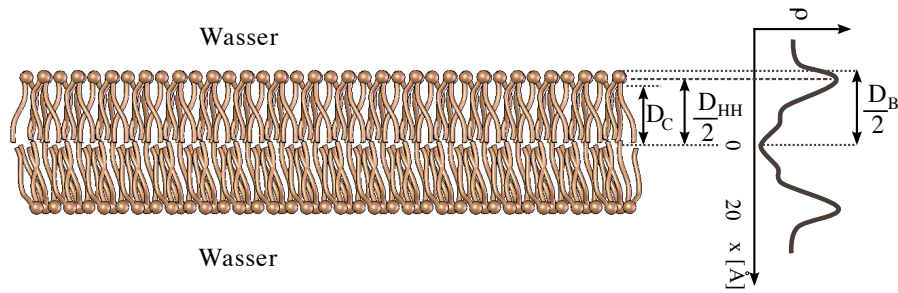


Abbildung 2.3: Skizze eines Lipid-Bilayers. Die rechts dargestellte Kurve entspricht der Auswertung der Ladungsdichte  $\rho$  aus einer typischen Röntgenmessung. Dickenbezeichnungen nach [62].

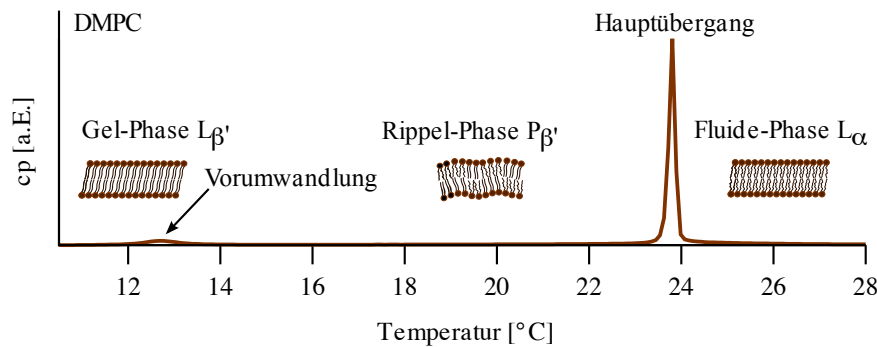


Abbildung 2.4: Wärmekapazitätsprofil ( $\Delta c_p$  von 1mg/ml DMPC in Wasser. Deutlich zu ist Vorumwandlung bei etwa  $T_p \approx 13^\circ\text{C}$ , die den Übergang von der gelförmigen Phase in die Rippel-Phase kennzeichnet. Die ausgeprägte Spitze der Hauptumwandlung bei  $T_m \approx 23,5^\circ\text{C}$  trennt die Rippel-Phase von der fluiden Phase. Temperaturrampe der Messung war  $20^\circ\text{C/h}$ .

Phase größter Unordnung, sowohl Kettenausrichtung als auch hexagonale Gitterperiodizität gehen verloren.

In Tabelle 2.2.3 sind einige Enthalpie- ( $\Delta H$ ) und Entropiedaten ( $\Delta S$ ) zu den häufigsten Phospholipiden aufgeführt. Erwartungsgemäß steigen die  $\Delta H$  Werte mit der Kettenlänge etwa linear an, die Übergangstemperaturen zeigen diese Linearität jedoch *nicht*. Durch die vergleichsweise geringe Halbwertsbreite des Hauptübergangs kann von einem stark kooperativen Verhalten der Lipide ausgegangen werden. Würden alle Lipide gleichzeitig den Übergang durchführen käme es zu einem unendlich schmalen Verlauf. Bemerkt werden sollte, dass sowohl Halbwertsbreite als auch die Höhe der Kurve von der Art der Lipid-Lösung (MUVs vs. SUVs) und signifikant von der Geschwindigkeit der Messung (Temperaturrampe) abhängen [1]. Klassisch (nach *Ehrenfest*) wird die Art der Phasenübergänge in Ordnungen kategorisiert, die auf dem Verlauf der *Gibb'schen* freien Energie  $G$  über der Temperatur  $T$  beruhen. Nach seiner Definition liegt

Tabelle 2.1: Eigenschaften von Phospholipiden, welche typischerweise für die Herstellung von Vesikeln verwendet werden. Spalten 4-6 nach [36], andere [2]. Die Angaben für SoyPC beziehen sich auf den Hauptbestandteil.

Bezeichnung	$M_w$ [g/mol]	C: ungesättigt	$\Delta H$ [kJ/mol]	$\Delta S$ [J mol <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup> ]	$T_m$ [°C]	$T_m$ [°C]	Netto-Lad. pH 7.4
DLPC	622	12:0	12.8	47.5	-5 bis 5	-1	0
DMPC	678	14:0	23.9	80.5	23.6	23	0
DPPC	734	16:0	38.1	121.2	41.3	41	0
DSPC	790	18:0	50.7	154.7	54.7	55	0
DOPC	786	18:1				-20	0
DMPE	636	14:0	31.5	97.4	49.8	50	0
DPPE	692	16:0				63	0
DOPE	744	18:1				-16	0
DMPA.Na	615	14:0				50	-1.3
DPPA.Na	671	16:0				67	-1.3
DOPA.Na	723	18:1				-8	-1.3
DMPG.Na	689	14:0	23	77.4	23.8	23	-1
DPPG.Na	745	16:0	32.5	103.6	40.3	41	-1
DOPG.Na	797	18:1				-18	-1
DMPS.Na	702	14:0				35	-1
DPPS.Na	758	16:0				54	-1
DOPS.Na	810	18:1				-11	-1
DOTAP.Cl	699	18:1				0	1
D15PC	706	15:0				33	
Soy PC	758	16:0 18:2					

ein Übergang  $n$ -ter Ordnung vor, wenn  $\frac{\partial^n G}{\partial T^n}|_p$  diskontinuierlich verläuft und alle niedrigeren Ableitungen kontinuierlich sind. Ein Phasenübergang 1. Ordnung weist somit einen kontinuierlichen Verlauf von  $G$  und einen diskontinuierlichen Verlauf von  $(\partial G/\partial T)_p$  auf. Zweiteres bedeutet nichts anderes als eine Unstetigkeit im Entropieverlauf ( $S = -(\partial G/\partial T)_p$ ). Mit  $G \equiv H - TS$  bedeutet dies ebenfalls eine Unstetigkeit der Enthalpie  $H$ . Wenn nun beide Größen der rechten Seite Unstetigkeiten aufweisen,  $G$  jedoch keinen Sprung aufweisen soll, muss zwingend gelten  $\Delta G = 0$ . Für jeden Übergang gilt  $\Delta G = \Delta H - T_t \Delta S$ , woraus mit voriger Erkenntnis geschlossen werden kann:  $\Delta H = T_t \Delta S$ .  $H$  ist die latente Wärme des Übergangs. Da die genannte Ordnungsdefinition auf der Existenz von Unstetigkeiten beruht, lassen sich jede Menge Probleme konstruieren[52], die durch eine Änderung der Einteilung umgangen werden können: Übergänge mit latenter Wärme sind Übergänge erster Ordnung, alle anderen werden als kontinuierliche Phasenübergänge bezeichnet. Phasenumwandlungen bei Lipidmembranen sind deshalb als Übergänge erster Ordnung aufzufassen.

## Kapitel 3

# Experimentelle Untersuchungsmethoden

### 3.1 Akustische Oberflächenwellen auf piezoelektrischen Substraten

Bereits im Jahr 1965 entdeckten *White* und *Voltmer* eine Methode zur effizienten Erzeugung von akustischen Oberflächenwellen auf piezoelektrischen Substraten. Sie brachten hierfür ineinandergreifende metallische Fingerstrukturen sog. *interdigital transducers*, *IDTs* auf ein Quarzsubstrat auf (siehe Abbildung 3.3). Durch Anregung mit einem gepulsten periodischen Signal konnten sie mittels piezoelektrischem Effekt akustische Oberflächenwellen anregen und mit einer etwas entfernten, identischen IDT Struktur detektieren. Über die Zeitdifferenz zwischen Anregung und Detektion bestimmten sie die Geschwindigkeit der Oberflächenwelle 3200 bis 3370 m/s, abhängig von der verwendeten Kristallorientierung [98]. Obwohl die erste Abhandlung über die Ausbreitung von akustischen Oberflächenwellen, sogenannten *Surface Acoustic Waves*, *SAWs* bereits von *Lord Rayleigh* im Jahr 1885 [72] veröffentlicht wurde und noch vor der Arbeit von *White* und *Voltmer* verschiedenste Anregungsmechanismen, z.B. mittels Elektronenstrahlen und intensivem Laserlicht untersucht wurden [27], kam es erst durch die verhältnismäßig einfache Erzeugung der *SAWs* mittels *IDTs* zu einem breiten Interesse in Forschung und Industrie.

#### 3.1.1 Grundlagen der akustischen Wellenausbreitung in Festkörpern

Zum Verständnis der Wechselwirkung von akustischen Oberflächenwellen und Membranen wird eine kurze Einführung in die Grundlagen der akustischen Wel-

lenausbreitung in piezoelektrischen Substraten gegeben. Im Allgemeinen wird die gesamte Akustik als Kontinuumstheorie behandelt, da die Ausdehnungen der dabei auftretenden Moden sich um Größenordnungen von den interatomaren Abständen unterscheiden. Der üblichen Vorgehensweise folgend, wird im ersten Schritt lediglich ein infinitesimale Volumenstück  $dV$  mit Koordinaten  $\mathbf{x}$  betrachtet. Liegt eine eindimensionale Belastung (Spannung) vor, die nicht mit den Hauptsymmetrieachsen zusammenfällt, wird das Volumenstück mit einer dreidimensionalen Verzerrung (Dehnung)  $\mathbf{x}' \rightarrow \mathbf{x} + \mathbf{u}$  reagieren bei der sich die Abstände benachbarter Volumenelemente ändern, wenn es sich nicht um eine Translation handelt. Dies bedeutet, dass sich  $\mathbf{u}(\mathbf{x})$  und  $\mathbf{u}(\mathbf{x} + d\mathbf{x})$  unterscheiden müssen. Dies fasst man in dem sogenannten Deformationstensor<sup>1</sup>  $S_{ij}$  (*strain*) zusammen, wobei gilt,

$$S_{ij} = \frac{1}{2} \left( \frac{\partial u_i}{\partial x_j} + \frac{\partial u_j}{\partial x_i} + \frac{\partial u_k}{\partial x_j} \frac{\partial u_k}{\partial x_i} \right) \approx \frac{1}{2} \left( \frac{\partial u_i}{\partial x_j} + \frac{\partial u_j}{\partial x_i} \right) \quad (3.1)$$

Im Hook'schen Gesetz wird der Dehnungstensor  $S$  mit dem Spannungstensor  $T$  (*tension*) verknüpft. Ausgeschrieben erhält man

$$T_{ij}(S_{kl}) = T_{ij}(0) + \left( \frac{\partial T_{ij}}{\partial S_{kl}} \right)_{S_{kl}=0} S_{kl} + \frac{1}{2} \left( \frac{\partial^2 T_{ij}}{\partial S_{kl} \partial S_{mn}} \right)_{S_{kl}=0, S_{mn}=0} S_{kl} S_{mn} + \dots \quad (3.2)$$

Im Allgemeinen beschränkt man die Betrachtung auf den linearen Zusammenhang und vernachlässigt Effekte höherer Ordnung.

$$T_{ij} = c_{ijkl} S_{kl} \quad (3.3)$$

Mit diesem Zusammenhang und der *Newtonschen*- Bewegungsgleichung kann man die Bewegungsgleichung eines *nicht-piezoelektrischen* Festkörpers aufstellen, siehe [3], S.16.

$$\sum_{j=1}^3 \frac{\partial T_{ij}}{\partial x_j} = \rho \frac{\partial^2 u_i}{\partial t^2} \quad (3.4)$$

Um aus dieser Gleichung die allgemeine Wellengleichung zu erhalten wird  $T_{ij}$  und  $S_{kl}$  entsprechend den vorangegangenen Gleichungen ersetzt

$$\sum_{j=1}^3 \frac{\partial \sum_{k,l=1}^3 c_{ijkl} \frac{1}{2} (\partial u_k / \partial x_l + \partial u_l / \partial x_k)}{\partial x_j} = \rho \frac{\partial^2 u_i}{\partial t^2} \quad (3.5)$$

---

<sup>1</sup>Genau genommen wird  $S_{ij}$  als Green-Saint-Venant Deformationstensor und der vereinfachte Ausdruck als infinitesimaler Dehnungstensor bezeichnet. Diese Unterscheidung ist aber im folgenden nicht von Bedeutung; es wird deshalb für eine durchgängige Notation weiterhin  $S$  verwendet [56].

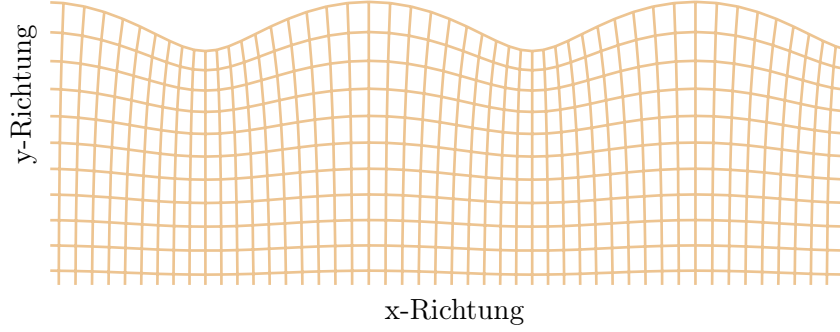


Abbildung 3.1: Oben: Skizze SAW induzierter Deformationen des Substrats (Rayleighwellen). Die Verzerrungen in  $x$ - und in  $y$ -Richtung fallen proportional zu  $e^{2\pi/\lambda \cdot y}$  ab. Die Dehnungsenergie ist zum größten Teil im Bereich der Substratoberfläche zu verzeichnen, im skizzierten Beispiel findet sich etwa 99% im Bereich  $< \lambda/2$ .

Weil aber Spannungs- und Dehnungstensor *symmetrisch* sein müssen, d.h.  $T_{ij} = T_{ji}$  und  $S_{kl} = S_{lk}$ , können maximal 6 der 9 Elemente voneinander verschieden sein. Mit der Erkenntnis, dass  $c_{ijkl} = c_{ijlk}$  werden die beiden Summanden in Gleichung 3.5 gleich. Im Ergebnis kommt man zur Wellengleichung für *nicht* piezoelektrische Materialien, siehe [3], S. 19, bzw. [78], S. 134.

$$\sum_{j,k,l=1}^3 c_{ijkl} \frac{\partial^2 u_k}{\partial x_j \partial x_l} = \rho \frac{\partial^2 u_i}{\partial t^2} \quad (3.6)$$

Betrachtet man lediglich den eindimensionalen Fall, wird der Vergleich zur Wellenausbreitung auf elektrischen Leitungen auffällig. Analog zu der Charakterisierung der elektrischen Wellenausbreitung in einem Medium mittels Wellenwiderstand  $Z$ , kann im Fall von Schallwellen die akustische Impedanz definiert und zur Untersuchung von Reflexions- und Transmissionseigenschaften herangezogen werden. Der Vergleich liefert

$$Z_c = \sqrt{\frac{\rho_0}{\chi}} = \rho_0 c \quad (3.7)$$

Blickt man auf die Wellengleichung, kann eine Abschätzung der Ausbreitungsgeschwindigkeit<sup>2</sup>  $c$  mittels

$$c = \sqrt{\frac{1/\chi}{\rho_0}} \quad (3.8)$$

erfolgen. Die Größe  $\chi$  beschreibt den Kompressionsmodul,  $\chi = -\frac{1}{V} \frac{\partial V}{\partial p} = -\frac{1}{\rho_0} \frac{\partial \rho}{\partial p}$

Für ein piezoelektrisches Material muss obiger Ausdruck um den Beitrag des elektrischen Felds  $\mathbf{E}$  erweitert werden. Bei einem gegebenen Verformungszustand führt die Ladungstrennung durch den piezoelektrischen Effekt zu einer Reduktion der mechanischen Spannung. Man gelangt somit auf die Ausdrücke

$$T_{ij} = c_{ijkl} S_{kl} - p_{kij} E_k \quad (3.9)$$

$$D_i = \epsilon_{ij} E_j + p_{ijk} S_{jk} \quad (3.10)$$

wobei hierin  $p_{kij}$  den piezoelektrischen und  $\epsilon_{ij}$  den dielektrischen Tensor bezeichnet.  $\mathbf{D}$  bezeichnet die sogenannte *dielektrische Verschiebung*. Auch hier führen Symmetriebetrachtungen zu einer Reduktion der unabhängigen Einträge. Maximal ergeben sich 18 Unabhängige für triklinen Material [78]. Die durch das elektrische Feld im hervorgerufene Dehnung addiert sich zu der mechanischen Dehnung. Wird das elektrische Feld  $\mathbf{E}$  durch den Ausdruck  $\mathbf{E} = -\nabla\Phi$  beschrieben<sup>3</sup>, wird die Wellengleichung zu

$$\sum_{j,k,l=1}^3 c_{ijkl} \frac{\partial^2 u_l}{\partial x_k \partial x_j} + \sum_{j,k=1}^3 e_{ijk} \frac{\partial^2 \Phi}{\partial x_k \partial x_j} = \rho \frac{\partial^2 u_i}{\partial t^2} \quad (3.11)$$

Der zusätzliche Anteil des elektrischen Potentials kann nach [3] als Quellenterm aufgefasst werden, der nur in Bereichen, in denen eine räumliche Änderung des Potentials vorliegt, von Null verschieden ist. In Komponentenschreibweise erkennt man, dass es sich um 2 Gleichungen für die 4 Unbekannten:  $u_{1,2,3}$  und  $\Phi$  handelt. Eine vierte Gleichung erhält man aus der Quellenfreiheit der dielektrischen Verschiebung  $\nabla \cdot \mathbf{D} = 0$  falls keine freien Ladungen vorhanden sind. Ersetzt man  $\mathbf{D}$  durch die piezoelektrische Konstitutivrelation und wiederum das elektrische Feld durch  $E_j = \partial\phi/\partial x_j$  resultiert dies in

$$e_{ijl} \frac{\partial^2 u_j}{\partial x_j \partial x_i} - \epsilon_{ij} \frac{\partial^2 \phi}{\partial x_j \partial x_i} = 0 \quad (3.12)$$

<sup>2</sup>Die Abschätzung zielt auf die Geschwindigkeit longitudinaler Volumenwellen. Im Fall von Scherwellen bzw. Oberflächenwellen muss der Ausdruck von  $1/\chi$  entsprechend den Einträgen des Steifigkeitstensors korrigiert werden, siehe Anhang.

<sup>3</sup>Da die Geschwindigkeit akustischer Wellen etwa nur  $10^{-5}c$  ist, kann das magnetische Feld vernachlässigt werden.

Tabelle 3.1: Materialeigenschaften der verwendeten Substrate

Phys. Größe	LiNbO <sub>3</sub>	LiTaO <sub>3</sub>	Ref.
Kristallschnitt	rot 128°-Y cut X-Prop.	rot 36°-Y cut X-Prop.	
Wellentyp	Rayleigh-Welle	SH-SAW	
$v \left[ \frac{m}{s} \right]$	3980	4150	[92]
$k_{eff}^2 [\%]$	5,3	4,7	[92]
$\epsilon^T, \epsilon^S$	65, 40	50, 41	[97],[95]
$\rho \left[ \frac{kg}{m^3} \right]$	4644	7450	[92]

Die in Tabelle 3.1.1 genannten  $\epsilon$  Werte sind wegen der Anisotropie der verwendeten Materialien stark richtungsabhängig. Für einen gegebenen Schnitt und gegebene Richtungen berechnet sich der Wert gemäß  $\epsilon = \sqrt{\epsilon_{11}\epsilon_{33} - \epsilon_{13}^2}$  aus dem entsprechend gedrehten Dielektrizitätstensor [47]. Da die Wellenausbreitungsrichtung bei den genannten Materialien mit der x-Kristallachse zusammenfällt muss der Tensor nur um diese Achse gedreht werden. Für LiNbO<sub>3</sub> um 128°-90°=38° und für LiTaO<sub>3</sub> um 36°-90°=-54°. Trotz dieser Korrektur können diese Werte jedoch nur für grobe Abschätzungen, z.B. der Oberflächenauslenkung, herangezogen werden, da die im  $\epsilon$ -Tensor enthalten Größen eine starke Frequenzabhängigkeit aufweisen. Üblicherweise werden die beiden Extremfälle  $\epsilon^T$  (*tension*) für freie Ausdehnung, d.h. niedrige Anregungsfrequenz unterhalb der Materialresonanzfrequenzen (z.B. 100kHz) und  $\epsilon^S$  (*strain*) für den eingespannten Fall bzw. hohe Anregungsfrequenzen angegeben [97]. Die analoge Überlegung gilt auch für die Betrachtung des Elastizitätsmoduls, bzw. der Komponenten  $c_{ijkl}$  des Steifigkeitstensors. Landau und Lifschitz ([48], S. 18-19) bestimmen die Korrektur des Elastizitätsmoduls für einen isotropen Festkörper im adiabaten Fall zu

$$E_{ad} \approx E + E \frac{T\alpha^2}{\rho C_p} \quad (3.13)$$

Hierin ist  $\alpha$  der Wärmeausdehnungskoeffizient ( $\alpha_{LiNbO_3}, \alpha_{LiTaO_3} \approx 10 \cdot 10^{-6}$ ), und  $C_p$  die Wärmekapazität des Materials ( $\approx 627$  J/kg K für LiNbO<sub>3</sub> bzw.  $\approx 251$  J/kg K für LiTaO<sub>3</sub>). Mit einem angenommenen E-Modul von etwa  $2 \cdot 10^{11}$  Nm<sup>-2</sup> erhält man eine Korrektur von unter 1%.

### 3.1.2 Stimulationsmodell

Ineinandergreifende metallische Fingerstrukturen (*IDTs*) stellen die einfachste technische Realisierung der SAW-Anregung dar. Zum Verständnis dieser Anregungsmöglichkeit ist es hilfreich sich im ersten Schritt eine konstante elektrische Spannung  $U$  an den beiden gegenüberliegenden Kammstrukturen vor-



zustellen, vgl. Abbildung 3.3. Diese führt durch den piezoelektrischen Effekt zu einer Verzerrung im Material, die sich aus Symmetriegründen periodisch abwechseln muss. Betrachtet man die einzelnen Finger nun als Erzeuger elementarer Wellenfronten und setzt man statt der konstanten Spannung einen sinusförmigen zeitlichen Verlauf an, so gelangt das System in Resonanz, falls die Strecke  $s = c_{SAW} \cdot T$  mit der Periodizität  $2p$  zusammenfällt. Es gilt somit  $f_0 = \frac{c_{SAW}}{2p}$ . Die Resonanzbedingung ist umso schmalbandiger, je mehr Fingerpaare beteiligt sind. Gemäß [79] kann eine einfache Abschätzung der Resonanzbreite durch die Annahme einer  $\delta$ -förmigen Anregung erfolgen: Der  $\delta$ -Puls erzeugt ein Wellenfeld der zeitlichen Länge  $\Theta = 2pN/c_{SAW} = N/f_0$ , dessen Einhüllende als zeitliches Rechtecksignal aufgefasst wird. Dieses entspricht der Fouriertransformation einer  $\sin(X)/X$  Antwort mit  $X = \pi\Theta(f - f_0)$ . Daraus lässt sich ein Ausdruck für die 3 dB Bandbreite abschätzen

$$\frac{\Delta f}{f_0} \approx \frac{0.885}{N} \quad (3.14)$$

Benutzt man identische Sender und Empfänger stellt sich eine dreiecksförmige Einhüllende der Zeitantwort (Dauer  $2\Theta$ ) ein und die Frequenzantwort der Anordnung bestimmt sich mit einer  $[\sin(X)/X]^2$  Funktion zu

$$\frac{\Delta f}{f_0} \approx \frac{0.635}{N} \quad (3.15)$$

Das so beschriebene Modell wird im Allgemeinen nur eine grobe Abschätzung zulassen, da z.B. akustische Reflexionen an den IDTs, Beugungseffekte, oder die ebenfalls stattfindende Erzeugung von *Bulk*-Wellen<sup>4</sup> bisher vollkommen unberücksichtigt geblieben sind. Es kann zu Störungen durch Vielfachreflexion und Interferenz kommen, sofern mit Signalen stimuliert wird, für die  $f > c_{Bulk}/2p$  gilt. Da  $c_{Bulk}$  normalerweise deutlich größer als  $c_{SAW}$  gilt, tritt dieses Problem üblicherweise auf, wenn die IDTs auf höheren Moden betrieben werden sollen. Eine Einkopplung in ein angrenzendes Medium mit Schallgeschwindigkeit  $c_M$ , z.B. Wasser, erfolgt jedoch bereits beim Betrieb auf der Resonanzfrequenz  $f_0$  und wird für die Erzeugung von Flüssigkeitsströmungen ausgenutzt, siehe z.B. Kapitel 5.3. Zum besseren Verständnis der Eigenschaften der Wellenanregung und der Frequenzantwort des IDTs ist es hilfreich, den Potential- und E-Feldverlauf an der Substratoberfläche zu betrachten, vgl. Abbildung 3.4. Auf den Fingern wird dabei ein konstantes Potential angenommen, an den Kanten der Finger ergeben sich periodisch abwechselnde Feldspitzen. In der einfachen

---

<sup>4</sup>Mit *bulk* (= engl. für Masse) wird i.A. das Material im Inneren, bzw. Effekte bezeichnet, welche sich nicht an der Oberfläche des Festkörpers stattfinden.

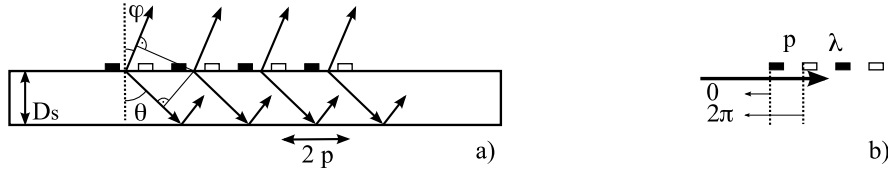


Abbildung 3.2: a) Zusätzlich zu den SAW kann eine Anregung von *Bulk*-wellen bzw. eine Welleneinkoppelung in das angrenzende Medium erfolgen. Die Einkoppelwinkel werden durch  $2p \sin \varphi = \lambda_M$  festgelegt. Für die Einkoppelung ins Medium bedeutet dies  $\sin \varphi = \frac{c_M}{c_{SAW}}$ . b) Finger wirken als Reflektoren.

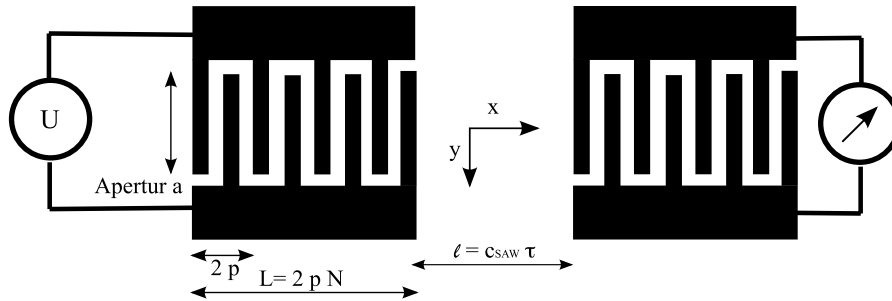


Abbildung 3.3: Prinzipskizze einer metallischen Fingerstrukturen (*IDTs*) zur Anregung von akustischen Oberflächenwellen auf piezoelektrischen Substraten. Die Wellenausbreitung erfolgt senkrecht zu den Fingern ( $x$ ), wobei die Breite der Wellenfront durch die Apertur  $a$  festgelegt wird. Die Periodizität  $2p$  der Finger bestimmt die möglichen Anregungsfrequenzen, wobei die Grundfrequenz (Mittenfrequenz bzw. Resonanzfrequenz) durch  $f_0 = c_{SAW}/\lambda$  mit  $\lambda = 2p$  festgelegt wird. Der Abstand  $l$  zwischen den IDTs wird bei SAW-Sensoren als Verzögerungsstrecke (*delayline*) bezeichnet.

Näherung des  $\delta$ -Modells werden die beiden Feldspitzen zu einem  $\delta$ -förmigen Anregungspuls, der sich im Zwischenraum der Finger ausbildet, zusammengefasst. Dadurch ergibt sich die Impulsantwort des IDTs als zeitlich sukzessive Überlagerung der einzelnen  $\delta$ -Pulse. In der Fouriertransformation erhält man den bereits bekannten  $\sin(x)/x$  Verlauf für die einzelnen Anregungsmoden. Aus Abbildung 3.5 wird ersichtlich, dass nach diesem einfachen Modell alle Anregungsmoden gleich stark ausgeprägt sein sollten. Dies ist in der Realität nicht der Fall. Beispielsweise führt das in Abbildung 3.3 gezeigte Tastverhältnis von 1:1 (Verhältnis von Metallisierung zu freier Oberfläche) und eine exakte Betrachtung des resultierenden E-Feldverlaufs dazu, dass sich die ungeradzahligten Harmonischen nicht ausbilden können [79].

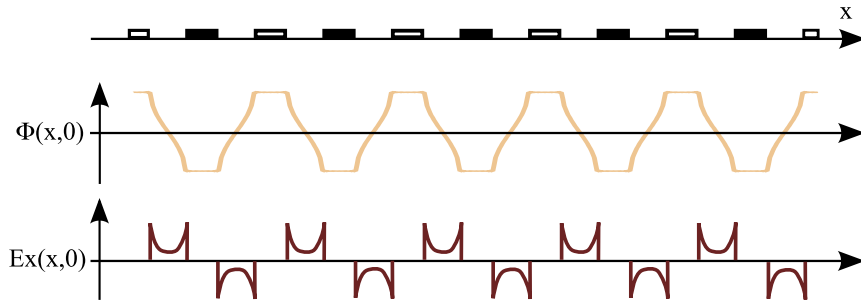


Abbildung 3.4: Statischer Potential- und  $E_x$ -Feldverlauf auf der Substratoberfläche ( $y = 0$ ), nach [79].

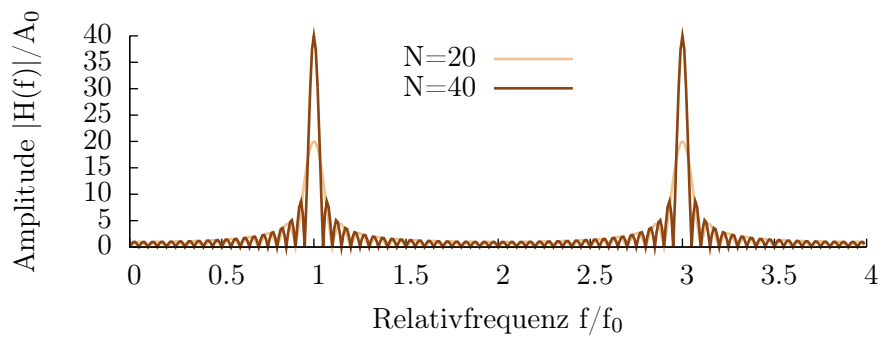


Abbildung 3.5: Vergleich der Frequenzantworten zweier Transducer mit  $N=20$  und  $N=40$  Fingerpaaren nach dem  $\delta$ -Modell (*discrete source method*, [79])

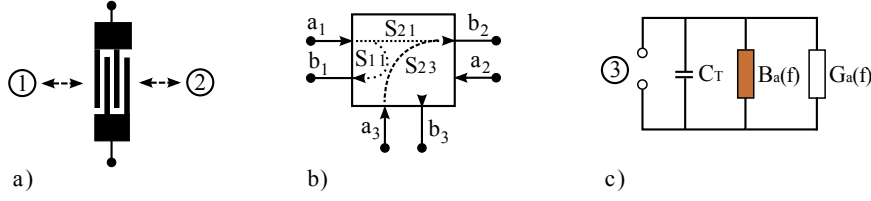


Abbildung 3.6: a) Skizze eines IDTs, die beiden akustischen Tore sind gekennzeichnet. b) Symboldarstellung der IDTs als 3-Tor bzw. 6-Pol. c) Elektrisches Ersatzschaltbild des IDTs im Resonanzfall.

### 3.1.3 Elektrisches Ersatzschaltbild der IDTs

Im Grunde kann ein IDT als 3-Tor Netzwerk (6-Pol) betrachtet werden, siehe Abbildung 3.6. Elektrische Signale an Tor 3 werden in akustische Wellen umgesetzt, die den Transducer in beide Richtungen verlassen. Im umgekehrten Fall werden die einfallenden Wellen in elektrische und mechanische Signale verwandelt. Beschränkt man sich auf lineare Zusammenhänge, kann die Beschreibung mittels einer 3x3 Matrix-Streumatrix erfolgen, siehe beispielsweise [79]. Eine Welle an Port  $k$  erzeugt Wellen mit Amplituden  $b_j$  an Port  $j$

$$b_j = \sum_{k=1}^3 s_{jk} a_k, \quad s_{jk} = \sigma_{jk} e^{i\theta_{jk}} \quad (3.16)$$

Die darin enthaltenen Größen  $s_{ij}$  sind die sogenannten Reflexionskoeffizienten ( $i = j$ ) bzw. Transmissionskoeffizienten ( $i \neq j$ ) zwischen den Ausgängen  $i$  und  $j$ <sup>5</sup>. Die Symmetrie des Problems reduziert die Zahl unabhängiger (komplexer) Größen auf 6. Die Anwendung dieses Konzepts erlaubt die Einführung einer Effizienz  $\eta = \sigma_{13}^2 = \sigma_{23}^2$ , mit der deutlich wird, dass mit  $\sigma_{33}^2 = 1 - 2\eta$  die Effizienz kleiner als 0.5 sein muss, d.h. die Effizienz eines bidirektionalen Empfängers beschreibt [79].

Im Resonanzbetrieb kann der IDT durch das in Abbildung 3.6 (c) gezeigte Ersatzschaltbild beschrieben werden. Die Größe  $C_T$  bildet die statische Kapazität des IDTs ab, die Leitwerte  $G_a$  und  $B_a$  beschreiben die Umwandlung von elektrischer in mechanische Energie: Die reelle Größe  $G_a$  wird als *Strahlungsleitwert* bezeichnet,  $B_a$  beschreibt den zugehörigen Imaginärteil. Insgesamt berechnet sich somit der Leitwert des IDTs aus der Summe der Anteile,  $Y_{IDT} = j(\omega t C_T + B_a) + G_a$ .

<sup>5</sup>Dies ist die gleiche Kennzeichnung, wie sie beispielsweise bei vektoriellen Netzwerkanalysatoren (NWAs) eingesetzt wird. Die Notation dort bezieht sich auf die äquivalente Betrachtung eines 2-Tors.

Im Resonanzfall bestimmen sich die Größen zu [16, 79, 43]

$$G_a(f) = \pi^2 K_R^2 C_T N f_0 \left( \frac{\sin X}{X} \right)^2 = G_0 \left( \frac{\sin X}{X} \right)^2 \quad (3.17)$$

$$B_a(f) = G_0 \frac{\sin 2X - 2X}{2X^2} \quad (3.18)$$

$$X_{\pm} = N\pi \frac{f \pm f_0}{f_0} \quad (3.19)$$

### 3.2 Zeitaufgelöste Sensorik mit akustischen Oberflächenwellen

Durch die Spannungsfreiheit der Substratoberfläche können sich spezielle akustische Oberflächenwellenmoden ausbilden. Beispielsweise koppeln im Fall von *Rayleigh*-Wellen longitudinale und transversale Kompressionswellen um die Randbedingungen zu erfüllen. In [3] findet sich die allgemeine Form einer in z-Richtung ausbreitenden SAW:

$$u(x, y, z, t) = [u_x(y)e^{j\phi_1}\hat{x} + u_y(y)e^{j\phi_2}\hat{y} + u_z(z)e^{j\phi_3}\hat{z}]e^{j\omega t - \gamma z} \quad (3.20)$$

Die Größen  $\phi_i$  beschreiben die Phasen der Komponenten bezogen auf  $u_z$ . Die Verschiebungskomponenten  $u_i(y)$  fallen etwa mit  $e^{-2\pi y/\lambda}$ . Der Hauptteil der Energie der Welle befindet sich in der Nähe der Oberfläche, wobei anschaulich gilt, dass je kürzer die Wellenlänge, desto mehr ist die Energie an der Oberfläche konzentriert. Dies bedeutet eine Erhöhung der Sensitivität bezüglich Oberflächenveränderungen, bzw. dass deshalb die Dämpfung von SAW-Wellen von ihrer Amplitude abhängen: Eine Vergrößerung der Amplitude ist gleichbedeutend mit einer Erhöhung der Partikelgeschwindigkeit. Findet die Wechselwirkung zwischen Welle (Substrat) und angrenzender Schicht durch Reibung statt, z.B.  $F_R \propto \nu$ , vergrößert sich die Wirkung quadratisch bei Erhöhung der Amplituden. Eine Partikelbewegung senkrecht zur Oberfläche führt dabei zu einem hohen dissipativen Anteil, weshalb *Rayleigh*-Wellen, vgl. Abbildung 3.1.1, zwar für mikrofluidische Pumpensysteme [100] und Gassensorik, aber nicht für Flüssigkeitssensorik geeignet sind [86, 11, 29, 50]. In diesen kommen vorwiegend Substrate mit Kristallorientierungen zum Einsatz, bei denen sich vorwiegend Scherwellenmoden oder Plattenmoden ausbilden. Aufgrund der Vielfalt an Möglichkeiten hat sich historisch ein 'ganzer Zoo' von Bezeichnungen gebildet. Einen kleinen Einblick in die unterschiedlichen Typen bietet beispielsweise [27]. In der vorliegenden Arbeit werden zur einfachen Unterscheidung lediglich die Begriffe *Scherwellen*-SAW (SSAW) und *Rayleighwellen*-SAW (SAW) benutzt - ersterer

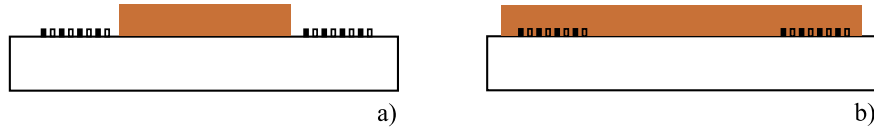


Abbildung 3.7: Vergleich zwischen idealer (a) und realer (b) Sensorgeometrie. Im idealen Fall wird die Erzeugung und Detektion der SAW nicht durch das zu detektierende Material beeinflusst. Im vorhandenen Messaufbau sind die IDTs Teil der *Verzögerungsleitung*.

entspricht in der genannten Quelle sogenannten *Surface Transverse Waves*.

Benutzt man akustische Oberflächenwellen für sensorische Aufgaben, nutzt man immer die Wechselwirkung einer laufenden Welle mit ihrer Umgebung aus. Die Welle wird dabei in ihrer Amplitude und ihrer Geschwindigkeit beeinflusst. Über die Länge  $l$  der Laufstrecke kann die absolute Größe der Beeinflussung eingestellt werden. Im Prinzip ergeben sich so zwei mögliche Anordnungen: Bei einer Verwendung als Resonator läuft die Oberflächenwelle auf einen möglichst idealen Reflektor und von dort zurück zum erzeugenden IDT. Die Wechselwirkung mit der Umgebung führt zur Verschiebung der Resonanzfrequenz und zur Veränderung der Resonanzamplitude. Die zweite, in dieser Arbeit verwendete Möglichkeit besteht in der räumlichen Trennung von Erzeuger und Empfänger, wie sie in Abbildung 3.3 beispielhaft dargestellt ist. Die Laufstrecke  $l$  wird als Verzögerungsleitung, engl. *delayline*, bezeichnet. Dieser Aufbau gestattet es, Wechselwirkungseffekte auch ausserhalb der Hauptresonanz zu erfassen, bzw. die Arbeitsfrequenz in weiten Bereichen einzustellen. Die hohe Empfindlichkeit der SAW-Sensorik erlaubt eine Fülle von Anwendungen, von der Beobachtung zeitaufgelöster Sorptionsvorgänge, bis hin zur Untersuchung von Metall-Halbleiterübergängen bei aufgetragenen Schichtsystemen (vgl. z.B. [77, 61]). In der bisherigen Beschreibung der akustischen Wellenausbreitung blieb die, für die Sensorik notwendige Wechselwirkung mit einem angrenzenden Medium bislang unberücksichtigt. Für die Diskussion der Wechselwirkungsmechanismen wird vorerst von einem Idealbild, vgl. Abbildung 3.7 a), ausgegangen und später auf den vorliegenden Fall erweitert. Im idealen Fall sind die zur Anregung und Detektion vorhandenen IDTs während der Messung vollkommen unbeeinflusst. Die zu untersuchende Wechselwirkung wird ausschließlich auf den Bereich der Laufstrecke  $l$  begrenzt und erleichtert die theoretische Betrachtung. In der Praxis wird dieser Anwendungsfall nur selten vollständig erreicht. Am einfachsten gelingt dies bei Messungen zur Materialdeposition, beispielsweise bei thermischem Verdampfen von Metallen. Hier kann auf Grund der relativ gerichteten Deposition ein geeigneter Bereich durch einfaches Ausblenden vorgegeben werden. Bei Anwendungen in der Flüssigkeitssensorik wird der rele-

vante Bereich häufig durch sogenannte *Funktionalisierung* definiert, mögliche Bindungsprozesse sollen nur dort stattfinden. Die Einbettung der IDTs in den Bereich des Reservoirs ist jedoch nicht unüblich, vgl. z.B. exemplarisch [86] und [22]. Meist bleibt der Einfluss unspezifischer Ablagerungen bzw. Bindungen im Bereich der IDTs jedoch unberücksichtigt. Für die in dieser Arbeit untersuchten Anlagerungsphänomene sind beide Vorgehensweisen jedoch wenig praktikabel. Die Eingrenzung der Anlagerung auf den Bereich der Verzögerungseitung bedarf eines kleinen Containers, welcher entweder durch einen physikalischen Behälter oder die Flüssigkeit selbst, in Form des Tropfens, realisiert sein kann. Bei Messungen an Flüssigkeitstropfen zeigte sich, dass die Änderungen der Messsignale stark auf Verdunstungseffekten beruhten. Durch Verdunstung ändert sich beispielsweise die Masse, die Konzentration der Inhaltsstoffe, sowie eventuell auch die Geometrie und somit die Charakteristik der Laufstrecke, siehe auch Kapitel 3.2.2. Während dies bei Kurzzeitmessungen noch durch adäquate Anpassung der Umgebung, z.B. Temperierung und Befeuchtung, ausgeglichen werden kann, ist dies bei Messzeiten von einigen Minuten bis hin zu Tagen schwer, bzw. durch die Vorgabe der Untersuchungsbedingungen, z.B. einer hohen Temperatur, nicht kompensierbar. Verringert man den Flüssigkeitscontainer auf den Bereich der Laufstrecke, ist der Erfolg der Messung stark davon abhängig, dass sich die Wechselwirkung von Container und Substratoberfläche während der gesamten Messzeit, sowie bei Änderungen der Messparameter nicht (Idealfall) oder nur kontrolliert ändern darf. Da die SAW die Containerwand zweimal durchqueren muss, wird jede dieser Veränderungen im Messsignal verzeichnet. Hinzu kommt, dass es in beiden Fällen - Tropfen und Container - zu unerwünschten akustischen Reflexionen an den Rändern der Begrenzungen kommt, welche sich als Störung dem Messsignal überlagern. Die Untersuchung technischer Möglichkeiten, das Flüssigkeitsvolumen auf den Bereich der IDTs einzuschränken ist nicht Bestandteil dieser Arbeit. Vielmehr sollen prinzipielle Wechselwirkungsmechanismen untersucht, das Sensorsystem diskutiert und die effektive Anwendbarkeit im Bereich der Sensorik an Biomembranen demonstriert werden.

### 3.2.1 Sensormodell und Akustoelektrische Dämpfung

In Anlehnung an [3], wird im folgenden ein SAW-Sensormodell aufgebaut und ausgebaut. Den Startpunkt bildet die Einführung des *Kopplungskoeffizienten*  $K^2$ , als Kenngröße für die Energieverhältnisse im Festkörper. Anschließend folgt die Betrachtung der Wellenausbreitung an der Substrat-Luft-Grenzfläche und die Veränderungen, welche durch einen dünnen, fest gebundenen Massebelag im Bereich der Verzögerungsstrecke  $l$ , siehe Abbildung 3.3, hervorgerufen werden.

Daraufhin wird dem Belag eine Leitfähigkeit zugesprochen und das Modell zum sogenannten Modell der *akustoelektrischen Dämpfung* erweitert. Dabei werden die Arbeiten von *Ricco, Martin* u.a. aufgegriffen [74, 64, 57], die dieses Verhalten durch ein einfaches elektrisches Ersatzschaltbild beschreiben. Es zeigt sich, dass die grundlegenden Ideen auch auf den Bereich der Flüssigkeitssensorik angewendet werden können. Im Kapitel 4 erfolgt der Vergleich zu den eigenen Messungen an kleinen Vesikeln aus unilamellaren Phospholipiden.

## Elektrostatische Energie und $K^2$

Werden im freien Raum Ladungen  $\rho$  akkumuliert, so gilt als Ausdruck für die elektrostatische Energie

$$\delta W = \int \delta \rho(\vec{x}) \phi(\vec{x}) d^3 x \quad (3.21)$$

Mit  $\partial x_i D_i = \rho$  kann geschrieben werden  $\delta \rho = \partial x_i \delta D_i$ . Setzt man dies in vorangegangene Gleichung ein, resultiert daraus  $\delta W = \int E_i \delta D_i d^3 x$ . Wird  $D$  von 0 bis zum Endwert  $D$  integriert und Linearität des Mediums angenommen gilt somit (vgl. [40])

$$W = \frac{1}{2} \int \vec{E} \vec{D} d^3 x \quad (3.22)$$

Bezogen auf einen kleinen Volumenwürfel bedeutet dies für die elektrische Energiedichte

$$U_E = - \sum_i \frac{D_i E_i}{2} \quad (3.23)$$

Mit  $E_i = -\partial_i \phi$  und  $\phi = \phi_0 e^{j(\omega t - kx)}$ , findet man als Ausdruck (siehe [3], S. 30) für das Verhältnis von elektrostatischer Energiedichte und Dehnungsenergiedichte

$$\frac{U_E}{U_S} = \frac{K^2}{1 + K^2} \approx K^2 \quad (3.24)$$

Der elektromechanische Kopplungskoeffizient  $K^2$  ist also zusätzlich zur piezoelektrischen Versteifung des Materials ( $c \rightarrow c(1 + K^2)$ ) näherungsweise *auch* als Verhältnis von elektrostatischer Energiedichte zu mechanischer Dehnungsenergiedichte aufzufassen.

## Energiedichte und Massebelag

Eine Welle mit einer Energiedichte  $U$  [ $W \cdot s \cdot m^{-3}$ ] kann als Durchdringung eines infinitesimalen Volumenelements  $\Delta V$  mit einer Leistungsdichte  $P$  [ $W/m^2$ ] verstanden werden. Es gilt  $P = U \nu$ . Betrachtet man ein verlustloses Medium,



ändert sich also die Leistungsdichte  $P$  nicht, erhält man die Proportionalität der relativen Geschwindigkeitsänderung zur relativen Energieänderung.

$$\frac{\Delta\nu}{\nu_0} = -\frac{\Delta U}{U_0} \quad (3.25)$$

Die Betrachtung der Änderung der mittleren kinetischen Energie und die Annahme einer harmonischen Partikelbewegung führen zum Zusammenhang

$$\frac{\Delta\nu}{\nu_0} = -\frac{\omega\nu_0\rho_S}{4} \frac{|\nu_0|^2}{\omega P} = -c_m f_0 \rho_S \quad (3.26)$$

Dabei wurde  $\frac{\pi\nu_0}{2} \left( \frac{|\nu_0|^2}{\omega P} \right)$  zur *Massenempfindlichkeit*  $c_m$  zusammengefasst. Dies lässt sich im Fall einer Resonatoranordnung auch mit der häufig verwendeten Proportionalität von relativer Frequenzänderung zur Arbeitsfrequenz

$$\frac{\Delta\nu}{\nu_0} = \frac{\Delta f}{f_0} = -\frac{\Delta U}{U_0} \quad (3.27)$$

darstellen, da in der augenfälligen Ähnlichkeit zur *Sauerbrey*-Gleichung der besondere Reiz der SAW-Sensoren zur Geltung kommt: Die im Vergleich mit klassischen QCM-Sensoren<sup>6</sup> signifikant höhere Empfindlichkeit aufgrund der deutlich höheren Arbeitsfrequenzen, vgl.  $\Delta f \propto f^2$ . Im verlustbehafteten Medium ändert sich die Leistungsenergiedichte einer ebenen Welle gemäß  $P(x) = P_0 e^{-2\alpha x}$ . Die dissipierte Leistungsdichte pro Strecke  $P_d = -\frac{\partial P}{\partial x}$  steht somit im Zusammenhang zur Dämpfungskonstanten  $\alpha$  gemäß  $\alpha = \frac{P_d}{2P}$ . Somit sind die Geschwindigkeitsänderungen und Dämpfungsänderungen *unabhängig* voneinander zu betrachten. Beide Größen werden üblicherweise als Real- und Imaginärteil einer komplexen Variablen, dem Ausbreitungsfaktor  $\gamma = \alpha + jk = \alpha + j\frac{\omega}{\nu}$ , zusammengefasst. Bei konstanter Frequenz  $\omega$ , gilt für Änderungen

$$\Delta\gamma = \Delta\alpha - jk_0 \frac{\Delta\nu}{\nu_0} \quad (3.28)$$

*Martin und Ricco* [57] normieren dies mit dem Wellenvektor  $k$  und erhalten

$$\Delta\gamma' = \frac{\Delta\alpha}{k} - j\frac{\Delta\nu}{\nu_0} = \frac{P_t}{2kP} \quad (3.29)$$

Der Massebelag wird somit als elastischer Energiespeicher aufgefasst und führt nicht zu einer Dämpfung.

---

<sup>6</sup>Dickenschwingungsmesser, *Quartz Crystal Microbalance*

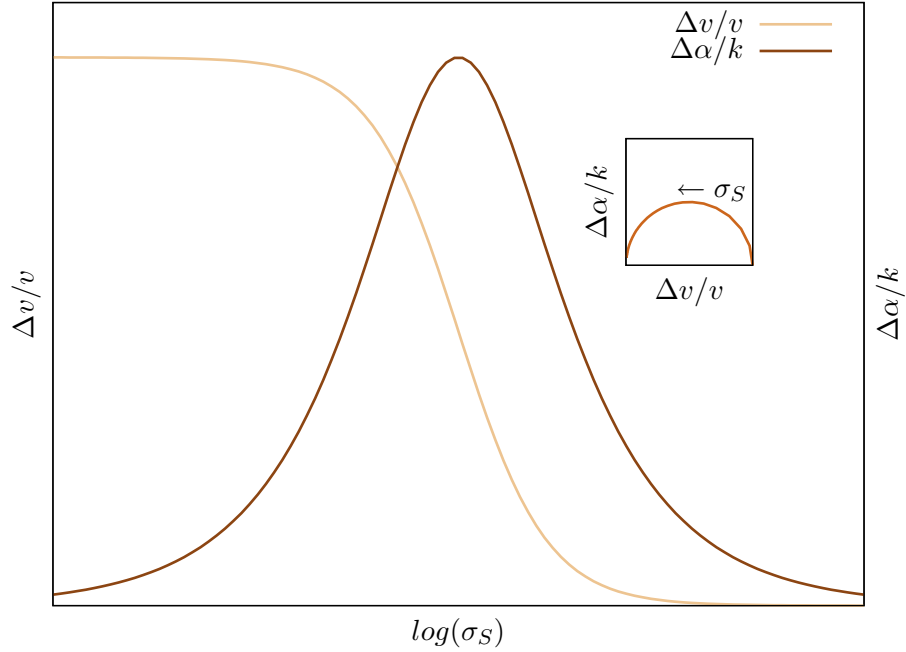


Abbildung 3.8: Akustoelektrische Dämpfung: Der Verlauf der Geschwindigkeitsänderung (linke Achse) und der Dämpfung (rechte Achse) zeigen in der Darstellung über der logarithmisch aufgetragenen Schichtleitfähigkeit das Bild eines gedämpften Resonators. In der mit  $\sigma_S$  parametrisierten Darstellung ergibt sich deshalb ein halbkreisförmiger Verlauf.

### Akustoelektrisches Antwortverhalten

Oberflächenwellen auf piezoelektrischen Substraten erzeugen elektrische Felder, die evaneszent in beide Halbräume hineinreichen. Wird eine leitfähige Schicht auf dem Substrat aufgebracht, reagieren die dort befindlichen Ladungsträger und versuchen das Feld zu kompensieren. *Martin und Ricco* [57] bildeten dies auf ein elektrisches Ersatzschaltbild ab, bei dem eine Stromquelle (Strom  $I_0 e^{j\omega t}$ ) an der Substratoberfläche angeordnet ist und die im Film erzeugten Ströme simuliert.

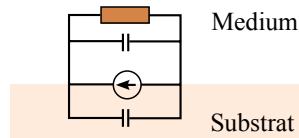


Abbildung 3.9: Ersatzschaltbild eines leitfähigen Films auf der Substratoberfläche, nach [57].

Das Verhalten des Films wird dabei durch einen Kondensator mit der Kapazität  $k\epsilon_0$  und einem Parallelwiderstand  $k^2\sigma_S$  an der Oberseite, das Verhalten des Substrats mit einem Kondensator mit  $k\epsilon_1$  für die Substratseite bestimmt. Die Größe  $\sigma_S$  bezeichnet die Schichtleitfähigkeit und steht zur Volumenleitfähigkeit  $\sigma$  dünner Filme der Dicke  $h_f$  im Zusammenhang

$\sigma_S \approx \sigma \cdot h_f$  Für die Stromdichte  $I_0$  auf der Oberfläche gilt nach [3] mit  $\epsilon_0$

für Luft und  $\epsilon_S$  für das Substrat

$$I_0^2 = 2K^2\omega k^2(\epsilon_0 + \epsilon_S)P \quad (3.30)$$

Bestimmt man die mittlere elektrische Leistung der Schaltung  $P = \langle U \cdot I^* \rangle$ , kann man die beiden Sonderfälle - mit ohmschem Verbraucher und ohne - getrennt aufstellen und gelangt mit der Differenz der beiden auf den *Akustoelektrischen Effekt*, die in die Schicht transferierte Leistung  $P_T$ . Verwendet man  $c_s = \epsilon_0 + \epsilon_S$  und teilt nach Imaginär und Realteil auf, erhält man

$$\frac{\Delta\nu}{\nu_0} = -\frac{K^2}{2} \frac{\sigma_S^2}{\sigma_S^2 + (\nu_0 c_S)^2} \quad (3.31)$$

$$\frac{\Delta\alpha}{k} = \frac{K^2}{2} \frac{\nu_0 c_S \sigma_S}{\sigma_S^2 + (\nu_0 c_S)^2} \quad (3.32)$$

Das Produkt  $\nu_0 c_S$  wird als kritische Schichtleitfähigkeit  $\sigma_c$  bezeichnet. Das Maximum der Dämpfung entspricht dabei der Anpassbedingung von Quellen- und Schichtimpedanz, bzw.  $\sigma_S = \sigma_c$ . In Abbildung 3.8 ist die normierte Dämpfungsänderung gegen die normierte Frequenzänderung angetragen und bildet einen halbkreisförmigen Verlauf mit der Schichtleitfähigkeit  $\sigma_S$  als Parameter und Radius  $K^2/4$ . Im Allgemeinen wird bei einer SAW-Messung immer eine Überlagerung der Effekte aus Massebelag, Dämpfung und Akustoelektrischem Effekt zu verzeichnen sein. Eine Unterscheidung und Zuordnung kann nur durch Vergleichsmessungen mit andersartigen Messmethoden erfolgen.

### Messaufbau zur zeitaufgelösten SAW-Sensorik

Üblicherweise werden die Eigenschaften elektrischer Hochfrequenzbauteile mittels vektorielltem Netzwerkanalysator (NWA) untersucht. Dieser ist ein fast unverzichtbares Hilfsmittel bei der Charakterisierung und liefert umfassende Aussagen, z.B. zur Anpassung der Bauteile, den Arbeitsfrequenzen, den Resonanztiefen und in beschränktem Umfang auch zum Zeitverhalten der Bauteile. Die für diese Arbeit verwendeten SAW-Sensoren wurden vorab ebenfalls charakterisiert. Für die Messungen zur Interaktion mit biologischen Materialien wurde jedoch einen eigener Messplatz aufgebaut, welcher zwar einem einfachen Netzwerkanalysator nachempfunden, aber der Problemstellung angepasst wurde. Der Begriff *zeitaufgelöst* soll dabei bedeuten, dass die Zeitkonstanten des Messaufbaus, z.B. Zeit pro Messaufnahme, deutlich unter den Zeiten des zu untersuchenden Systems liegen. Konkret spielt sich beispielsweise die Wechselwirkung zwischen SUVs und der Oberfläche im Bereich von Minuten bis Stunden ab, die verwendeten Abtastfrequenzen liegen jedoch einstellungsabhängig bei 0,5 bis 2 Hz, so dass

ein Verlauf von etwa 30 Minuten Dauer mit über 1000 Messpunkten abgedeckt werden kann. Der eigentliche Vorteil des Aufbaus liegt aber in der Möglichkeit den SAW-Sensor nicht zeitkontinuierlich, sondern gepulst betreiben und auswerten zu können. Z.B. kann so zwischen *Bulkmoden* und Oberflächenwellen, siehe Abbildung 3.2, unterschieden werden, sofern sich die Laufzeiten ausreichend unterscheiden. Die Auswertung liefert im Idealfall die Sensorantwort einer einzelnen Schwingungsmode und nicht den *eingeschwungenen Zustand*, sprich die Überlagerung aus allen angeregten Moden. Realisiert wird dies durch den in Abbildung 3.10 schematisch gezeigten Aufbau. Ein Signalgenerator (HF) liefert die für den SAW-Sensor benötigte sinusförmige Anregung. Dieses Signal wird in einem 90°-Leistungssteiler auf den eigentlichen Messpfad (unten) und einen Referenzzweig (oben) aufgeteilt. Im unteren Zweig wird das Signal mittels eines Niederfrequenzgenerators periodisch auf den SAW-Sensor geschaltet. Für die Messung wurde dabei die Pulsbreite des Schaltsignals so gewählt, dass bereits ein Abschalten des Erreger-IDTs erfolgt ist, wenn die von ihm erzeugte SAW den Detektor-IDT erreicht. Dadurch wird sichergestellt, dass ein eventuell vorhandenes, quasi-instantanes Übersprechen vom eigentlichen SAW-Signal unterschieden werden kann. Prinzipiell würde diese Überlegung die Limitation der Pulsfrequenz darstellen. Es bietet sich jedoch an, mehrere Pulse auszuwerten, so dass die Anzahl der Mittelungen und die Eigenschaften der nachfolgenden Auswerteelektronik die eigentliche Begrenzung darstellen.

Seien  $\underline{U}_1 = \underline{A}e^{j\omega t}$  und  $\underline{U}_2 = \underline{B}e^{j\omega t}$  die Signalspannungen, welche vom Signalgenerator bzw. vom Detektor-IDT kommen<sup>7</sup>. Somit können die Multiplikationen in Abbildung 3.10 als  $\Re(\underline{U}_1) \cdot \Re(\underline{U}_2)$  und  $\Im(\underline{U}_1) \cdot \Re(\underline{U}_2)$  geschrieben werden. Es gilt

$$\langle \Re \underline{U}_1 \cdot \Re \underline{U}_2 \rangle_t = \frac{1}{2} \langle \Re(\underline{A}\underline{B}e^{j2\omega t} + \underline{A}^* \underline{B}) \rangle = \frac{1}{2} AB \cos(\Delta\varphi) \quad (3.33)$$

$$\langle \Im \underline{U}_1 \cdot \Re \underline{U}_2 \rangle_t = \frac{1}{2} \langle \Im(\underline{A}\underline{B}e^{j2\omega t} + \underline{B}^* \underline{A}) \rangle = \frac{1}{2} AB \sin(\Delta\varphi) \quad (3.34)$$

Mit  $\Delta\varphi = \varphi_A - \varphi_B$  als Phasendifferenz der komplexen Amplituden. Signaländerungen können somit in Betrag und Phase analysiert werden. Mit einer Betragsänderung wird eine Änderung der Dämpfung identifiziert, Phasenverschiebungen spiegeln Laufzeitänderungen wider. In Abbildung 3.11 findet sich ein typisches Signalbild für eine SAW-Messung mit Wasser (Aufbau siehe 3.12). Nach einer Laufzeit von etwa  $1\mu s$  erreicht die Oberflächenwelle den Detektor-IDT. Bei der verwendeten Frequenz zeigt sich ein Minimum in Kanal 1 und entsprechend der Nulldurchgang in Kanal 2. Eine kontinuierliche Frequenzänderung bewirkt

---

<sup>7</sup>Die Phasen der Signale sind in den komplexen Amplituden  $\underline{A}$  und  $\underline{B}$  berücksichtigt.

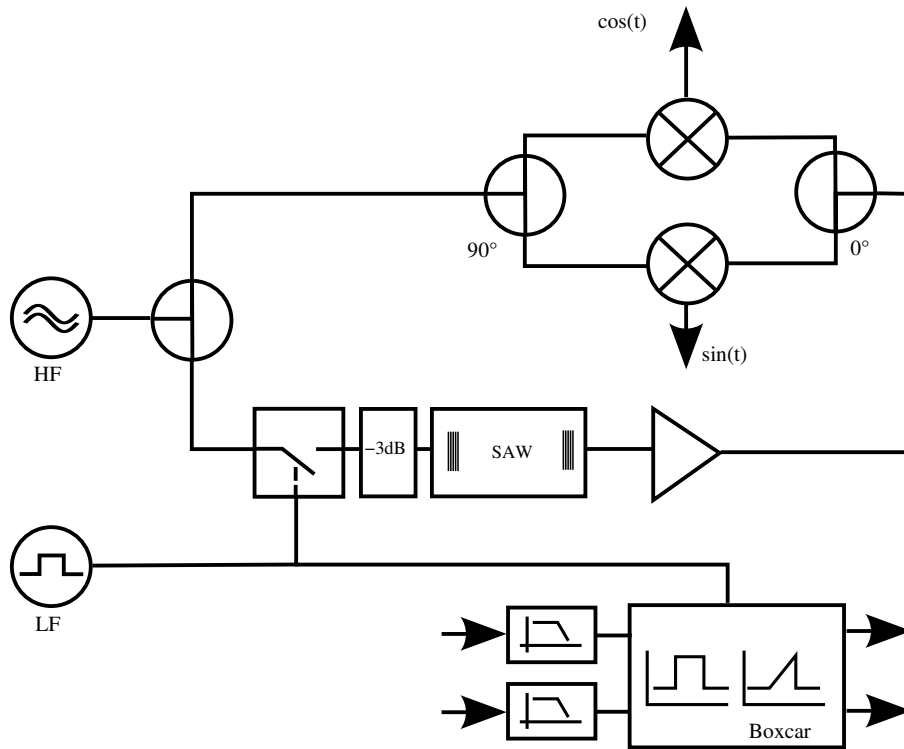


Abbildung 3.10: Blockschaltbild der zeitaufgelösten Sensorik mit SAW. Die beiden Multiplizierer generieren durch  $90^\circ$  Phasendifferenz  $\cos(t)$  bzw.  $\sin(t)$ , welche dem zeitsynchronisierten integrierenden Verstärker (*Boxcar*) zugeführt werden.

deshalb oszillierende Sensorsignale in Kanal 1 und Kanal 2 aus welchen Betrag und Phase berechnet werden kann. Der auszuwertende Zeitbereich des eigentlichen SAW-Signals wird mittels *Gate* festgelegt. Zur Messung ist der Sensorchip mit einem lösemittelresistenten Kleber<sup>8</sup> in eine  $\mu$ -strip Elektronikplatine eingeklebt. Die Abmessungen der Platine sind mit 24mm x 75mm auf standardisierte Mikroskopgläser angepasst. Für die leitfähige Verbindung von Leiterbahn und Sensorchip hat sich ein 2-Komponenten Kleber<sup>9</sup> mit Silberanteil als vorteilhaft erwiesen. Als Flüssigkeitsreservoir (Küvette) können adhäsiv haftende, biokompatible Zylinder aus PDMS<sup>10</sup> verwendet werden, womit die Abdichtung mittels Silikonpasten bzw. Dichtringen entfällt.

### 3.2.2 Charakterisierung von Sensor und Messaufbau

Nachdem in den vorangegangenen Kapiteln die prinzipielle Vorgehensweise der SAW-Messung vorgestellt wurde, soll im folgenden nochmals kurz auf die in

<sup>8</sup>Eccobond 286, Emerson & Cuming, Belgien

<sup>9</sup>Epo-Tec H20E, Polytec, Deutschland

<sup>10</sup>Polydimethylsiloxan, biokompatibles Silikon. Sylgaard 184, Dow Corning, Deutschland bzw. alternativ Microset 101RF, Microset, England

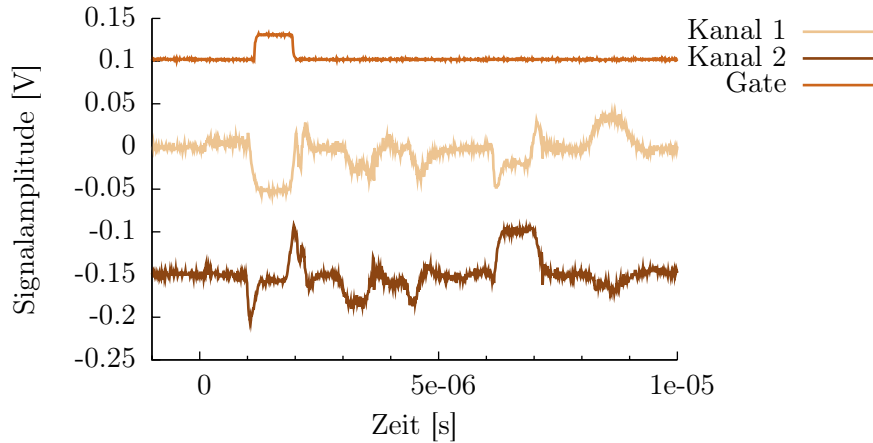


Abbildung 3.11: Typisches Oszillogramm des Boxcar-Signals des SAW-Sensors bei Beladung mit Wasser. Die Anregung (Signalgenerator: -15 dBm) mit 152.54 MHz startet auf der Zeitskala bei etwa Null Sekunden für eine Dauer von 800 ns. In Kanal 1 ist dies durch ein geringes Übersprechsignal ersichtlich. Nach etwa  $1\mu\text{s}$  ist wird das SAW-Signal sichtbar, wobei die Signaldauer durch die endlichen Anstiegs- und Abfallzeiten des Aufbaus verbreitert ist. Bei ungefähr  $3\mu\text{s}$  erscheint sogenannte *tripple-tansit*-Signal, bei dem die Welle den Signalweg dreifach durchlaufen hat und jeweils an den IDTs reflektiert wurde.

3.2 erwähnte Problematik bzgl. unterschiedlich gestalteter Messaufbauten eingegangen werden. Nachfolgend werden Messungen zur Charakterisierung des Aufbaus vorgestellt. Hierfür wurden verschiedene Bedingungen eingestellt und untersucht. Mit einem Netzwerkanalysator konnten Vergleichsmessungen vorgenommen werden.

### SAW-Geschwindigkeit und Phasenverlauf

In nebenstehender Abbildung ist ein Teil der Messanordnung freigestellt.

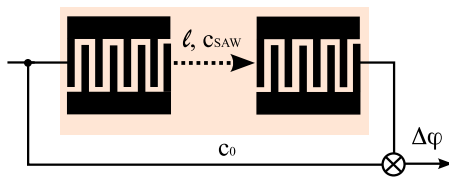


Abbildung 3.13: Aufspaltung des hochfrequenten Anregungssignals auf Laufstrecke und Referenzleitung mit anschließender Multiplikation.

Das hochfrequente Anregungssignal wird geteilt, ein Signalweg geht zur SAW Anregung auf den linken IDT, der zweite Signalweg verläuft über die Referenzleitung. Anschließend erfolgt die Multiplikation der beiden Signale. Verschiedene Faktoren beeinflussen die Phasendifferenz<sup>11</sup>  $\Delta\varphi$ : Aus einer einfachen Überlegung zu den Lauf-

zeiten auf den beiden Signalpfaden, kann der lineare Zusammenhang zwischen

<sup>11</sup>Zur besseren Anschauung erfolgt die Messung der Phasen in Grad statt in Bruchteilen von  $\pi$ .

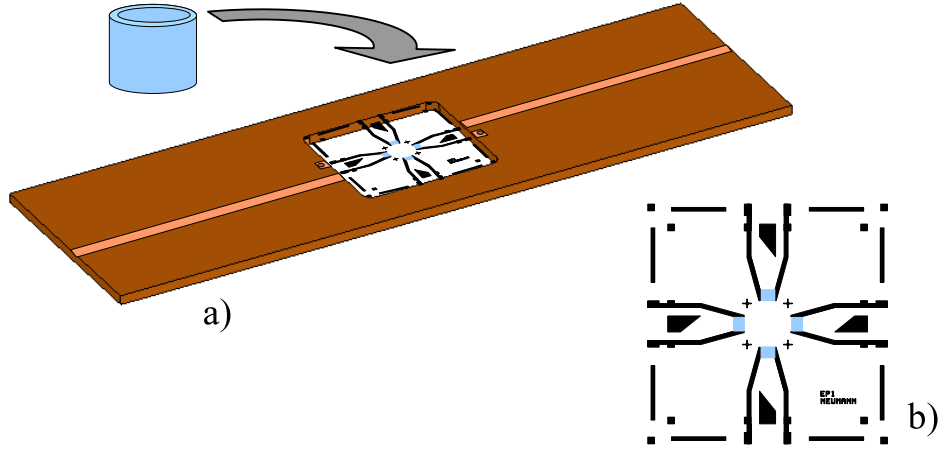


Abbildung 3.12: Skizze der Anordnung zur Sensorik bzw. Aktorik mit akustischen Oberflächenwellen. Die IDT-Strukturen b) sind auf ein etwa 15 mm x 15 mm großes, piezoelektrisches Substrat aufgedampft. Dieser Chip wird in eine strukturierte Elektronikplatine a) eingeklebt und kontaktiert. Die gemeinsame Masse wird über die Rückseite der Platine geführt. Ein Zylinder aus PDMS kann adhäsiv auf dem Chip plaziert werden und bildet ein Flüssigkeitsreservoir von etwa 700  $\mu\text{L}$

$\Delta\varphi$  und der Frequenz  $f_{\text{MHz}}$  aufgestellt werden<sup>12</sup>.

$$\Delta\varphi = 360^\circ \cdot 10^6 \cdot l \cdot \frac{c_0 - c_{\text{SAW}}}{c_0 c_{\text{SAW}}} \cdot f_{\text{MHz}} \quad (3.35)$$

Mit einer Ausbreitungsgeschwindigkeit für elektromagnetische Wellen auf Koaxialkabeln von  $c_0 \approx 2 \cdot 10^8 \text{ m/s}$  und einer SAW Geschwindigkeit  $c_{\text{SAW}} \approx 3500 \text{ m/s}$ , sowie einer Laufstrecke  $l = 3.5 \text{ mm}$  berechnet sich die Steigung  $s$  zu etwa  $360^\circ/\text{MHz}$ , was durch Messung bestätigt wird. Da sich zwischen  $c_0$  und  $c_{\text{SAW}}$  ein Faktor  $10^5$  befindet, kann die Steigung durch Näherung  $c_{\text{SAW}} \ll c_0$  vereinfacht werden. Das totale Differenzial berechnet sich somit zu

$$d\Delta\varphi \approx \frac{360^\circ f}{c_{\text{SAW}}} dl - \frac{360^\circ f L}{c_{\text{SAW}}^2} dc_{\text{SAW}} + \frac{360^\circ f L}{c_{\text{SAW}}} df \quad (3.36)$$

Es sei nun, durch Benetzungsänderung, unterschiedliche Befüllung, oder ähnliches, eine Laufstreckenänderung von  $10 \mu\text{m}$  angenommen. Dabei ändert sich die Steigung im genannten Beispiel um etwa 1 Grad/MHz, die betragsmäßig gleiche Veränderung wird bei einer Geschwindigkeitsänderung von knapp 3% erreicht. Wie bereits beschrieben, stellt dies die Größenordnung der Änderung dar, die zwischen einer vollkommen elektrisch kurzgeschlossenen und einer freien Oberfläche zu erwarten ist. Die Abschätzung unterstreicht die erwähnte Problematik

<sup>12</sup>Beachte:  $f = 10^6 \cdot f_{\text{MHz}}$

bei der Wahl des Flüssigkeitsreservoirs zwischen den IDTs. Während beispielsweise bei der Untersuchung dünner Halbleiter-Filme die Länge der Laufstrecke fest definiert werden kann und eine Änderung um  $10\text{ }\mu\text{m}$  mehr als unwahrscheinlich sein wird, ist dies für einen Flüssigkeitstropfen eine durchaus realistische Größenordnung. Gleichung 3.35 ist auch in umgekehrter Betrachtung hilfreich: Die Steigung  $s$  der Ausgleichsgeraden liefert die Ausbreitungsgeschwindigkeit, unabhängig von der absolut vorliegenden Phasendifferenz:

$$c_{SAW} \approx \frac{360^\circ \cdot 10^6 \cdot l}{s} \quad (3.37)$$

Zur Überprüfung der Belastbarkeit der Aussagekraft dieses Zusammenhangs wurden auf zwei LiTaO<sub>3</sub> Substraten mit identisch strukturierten IDTs und ohne Schutzschicht Vergleichsmessungen aufgenommen und ausgewertet. In Abbildung 3.14 findet sich eine Zusammenstellung der Messkurven. In Messung S\* wurde die Rückseite des Substrats mechanisch gedämpft, um die Überlagerung unerwünschter Plattenmoden zu unterdrücken. Ausgehend von einer Laufstrecke

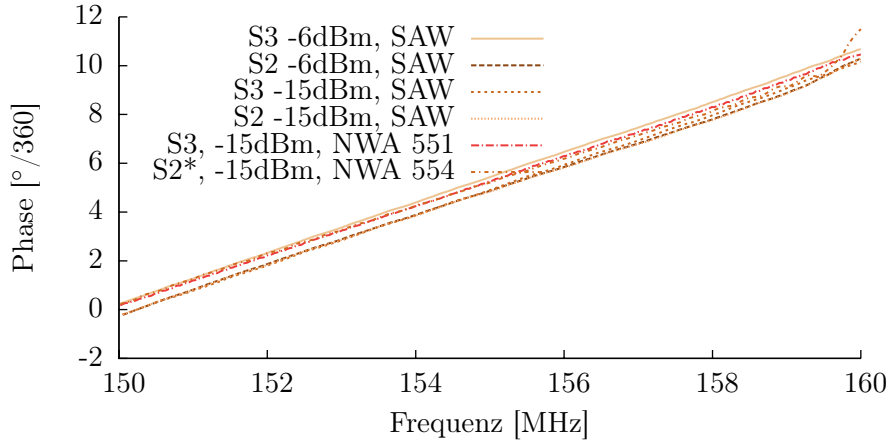


Abbildung 3.14: Frequenzabhängigkeit des Phasenwinkels. Substrate aus LiTaO<sub>3</sub>. S2:  $d=200\text{ }\mu\text{m}$ , beidseitig poliert. S3:  $d=400\text{ }\mu\text{m}$ , Rückseite unpoliert, schräge Substratkanten. S2\*: Rückseite mechanisch gedämpft. Angegeben sind die am Signalgenerator eingestellten Leistungen. Steigungen:  $371.7 - 358.7 - 370.5 - 358.2 - 366.1 - 352.0\text{ }[^\circ/\text{MHz}]$

cke von  $3500\text{ }\mu\text{m}$  lassen sich daraus Geschwindigkeiten zwischen  $3390\text{ m/s}$  und  $3580\text{ m/s}$  berechnen. Beide Werte fallen im Vergleich zur Literatur und zur Abschätzung über das Transmissionsmaximum, vgl. folgender Abschnitt, deutlich zu gering aus. Nimmt man mögliche Unterschiede in der Oberflächenbeschaffenheit der Substrate, sowie Verunreinigungen als untergeordnete Faktoren an, welche die besagte Diskrepanz nicht erklären, darf als effektiv wirksame Laufstrecke  $l_{eff}$  deshalb *nicht* der lichte Abstand  $l$  der IDTs herangezogen werden.



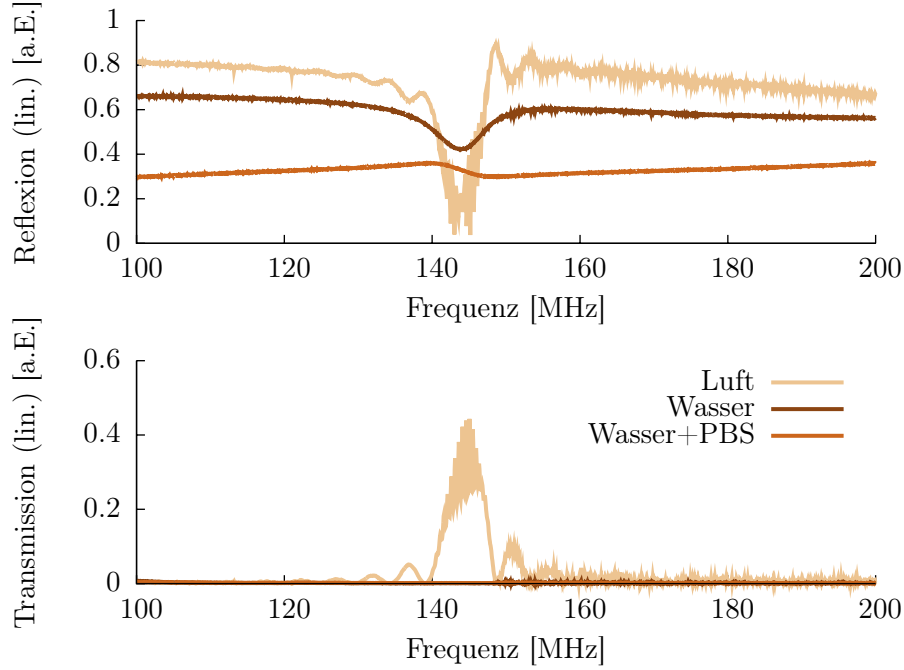


Abbildung 3.15: Reflexions- und Transmissionsmessungen mittels Netzwerkanalysator an Luft, Wasser und Wasser+PBS ( $50 \mu\text{L} + 200 \mu\text{L}$ ), durchgeführt mit einem Chip aus  $\text{LiNbO}_3$ .

Vielmehr ist eine realistische Länge im Bereich  $l < l_{\text{eff}} < l + L/2$  anzunehmen, vgl. Abbildung 3.3, wobei diese auch durch den Aufbau der IDTs beeinflusst wird. Mit  $s = 370^\circ/\text{MHz}$  erhält man  $l_{\text{eff}} \approx 4265 \mu\text{m}$ .

### Flüssigkeitssensorik: Scherwellen- versus Rayleighwellensubstrate

In Abbildung 3.15 ist die Reflexions- und Transmissionscharakteristik eines *Rayleigh*-SAW Chips dargestellt. Im trockenen Zustand ist in der Reflexionsmessung (S11) ein ausgeprägtes Minimum und in Transmissionsmessung (S21) die erwartete  $[\sin(X)/X]^2$  Charakteristik (siehe Kapitel 3.1.2) zu erkennen. Bereits bei Beladung mit Reinstwasser ( $200 \mu\text{L}$ ) ist das Reflexionsminimum deutlich verändert, das Transmissionsmaximum ist in der linearen Darstellung erwartungsgemäß, siehe z.B. [23], völlig verschwunden. Die Messung mit PBS<sup>13</sup> verstärkt die Signalveränderungen durch die Leitfähigkeit der Lösung nochmals. Die Impedanz des SAW-Chips ist soweit verändert, dass auch das S11-Minimum vollständig unterdrückt wird. Rayleighwellen-Substrate sind deshalb für Anwendungen in der Flüssigkeitssensorik ungeeignet, siehe auch Abschnitt 3.2. Für die Flüssigkeitssensorik wurden in dieser Arbeit deshalb Scherwellensubstrate aus  $\text{LiTaO}_3$

<sup>13</sup>PBS: *phosphate buffered saline*, dem menschlichen Blut nachempfundene phosphatgepufferte Salzlösung.

benutzt. In Abbildung 3.16 (unten) ist die typische Transmissionscharakteristik

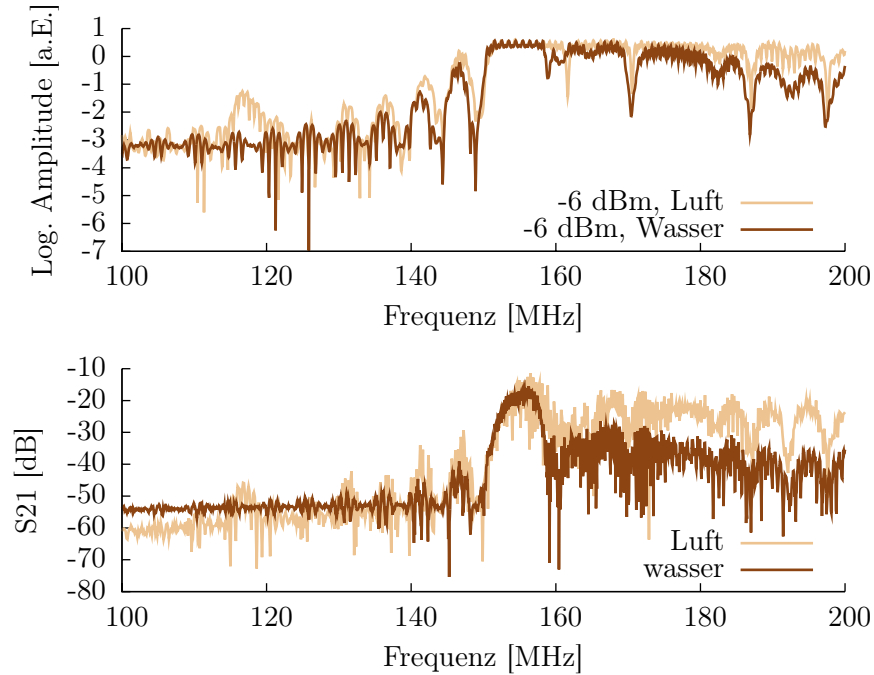


Abbildung 3.16: Vergleich der Transmissionssignale des LiTaO<sub>3</sub> Chips (36°Y,X-prop, SiO<sub>2</sub> beschichtet) am eigenen Aufbau (oben) und der Messung am Netzwerkanalysator (unten). Gemessen wurde jeweils an Luft und in Wasser.

(S11) eines solchen Scherwellenchips aus LiTaO<sub>3</sub> abgebildet. Die auf dem Substrat befindlichen Strukturen sind identisch mit denen des Rayleighchips aus Abbildung 3.15. Deutlich zu erkennen ist das Transmissionsmaximum bei etwa 155 MHz und Teile der erwarteten Charakteristik, jedoch weniger ausgeprägt. Es zeigt sich, dass die Amplitude des Hauptmaxima durch den zusätzlichen Wasserbelag unverändert vorhanden bleibt. Wurde auf dem Rayleighsubstrat eine *reine* Mode angeregt, kann davon ausgegangen werden, dass auf diesem Substrat eine Schermode (SSAW) dominiert, insgesamt jedoch eine Mischung verschiedener Moden vorliegt. Bemerkenswert ist auch ein zweites Transmissionsmaximum bei etwa 117 MHz welches bei Beladung mit Wasser verschwindet. Es handelt sich somit um eine Mode mit vertikaler Auslenkungskomponente. Im oberen Teil der Abbildung ist der identische Frequenzbereich mittels eigenem Aufbau vermessen. Die Anregungsleistung kann relativ frei gewählt werden und betrug -6dBm. Vergleicht man die beiden Messmethoden werden zwei Aspekte der Messung am eigenen Aufbau augenfällig: Zum einen ist die Form der Transmissionssignale ist deutlicher ausgeprägter und zweitens zeigt das Hauptmaximum ein breites Plateau, gefolgt von weiteren Maxima. Diese kompensieren sich bei der kontinuierlichen Messung mittels NWA gegenseitig. Es zeigt sich, dass die Plateaubildung

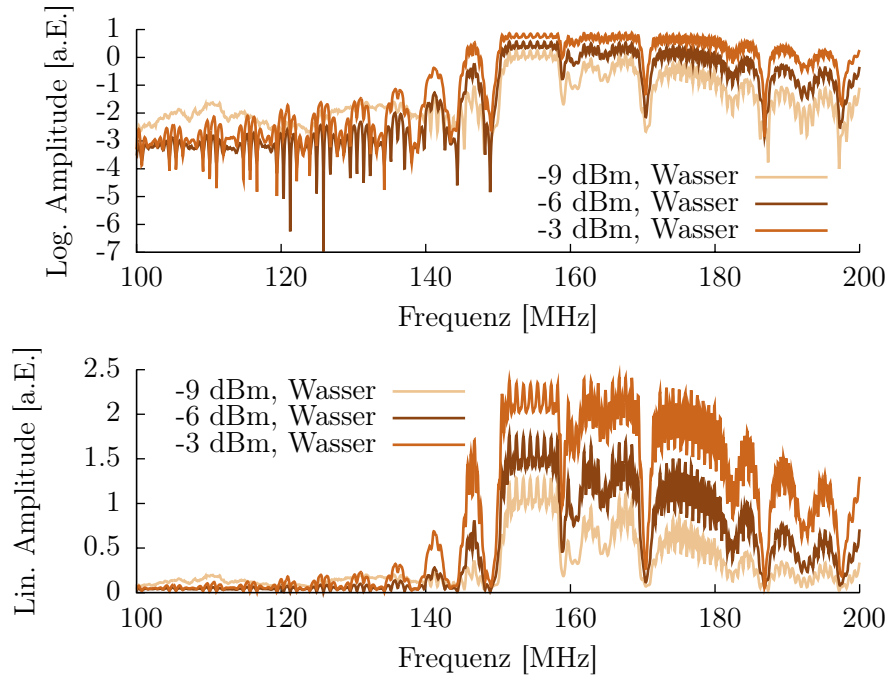


Abbildung 3.17: Vergleich des SAW-Amplitudensignals bei 3 verschiedenen Anregungsleistungen und Messung unter Wasser. Oben: logarithmische, unten lineare Auftragung.

nicht -wie leicht zu vermuten wäre - von einer Sättigung der Auswerteelektronik herrührt. Dies wird anhand folgender Messkurven ersichtlich. Beispielhaft wird dies in Abbildung 3.17 deutlich. Zu sehen ist die Transmissionscharakteristik wiederum im Bereich von 100 bis 200 MHz, jedoch unter drei verschiedenen Anregungsleistungen. Wird die Anregungsleistung noch weiter reduziert, verringert sich die Ausprägung des Plateaus. Die Intensitätsabhängigkeit des Transmissionsignals ist in Abbildung 3.18 über einen Bereich von -30 dBm bis -10 dBm gezeigt. Obwohl sich die beiden Ergebnisse der Messung an Luft (oben) und der Messung an Wasser (unten) prinzipiell ähnlich sind, d.h. die gleiche Gesamtstruktur aufweisen, ist bei Beladung mit Wasser eine stärkere Ausbildung des Transmissionsmaximums zu erkennen. Bei kleinen Anregungsleistungen (unter -20 dBm) kann das Transmissionsignal ausserhalb des Maximums nicht mehr aufgelöst werden. Die Hauptinformation ist in der Änderung des Phasenwinkels im Bereich des Hauptmaximums zu finden. In Abbildung 3.19 die die direkten Messergebnisse, wie sie aus dem Netzwerkanalysator bzw. dem SAW-Messaufbau gewonnen werden dargestellt. Die darin vorhandenen Knicke sind jeweils Artefakte der Winkelbildung, wobei der Abschnitt positiver Steigung durch den Abstand einzelner Messpunkte (Frequenzintervall) bestimmt ist. Eine geeignete

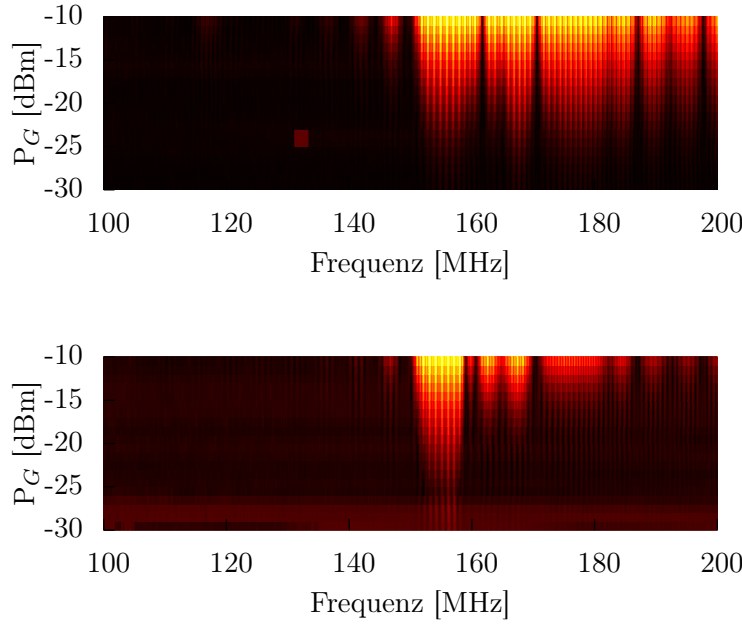


Abbildung 3.18: Vergleich des SAW-Amplitudensignals bei Anregungsleistungen von -30 dBm bis -10 dBm. Oben: Messung an Luft. Unten: Messung mit Wasser in der Küvette. Helle Flächen kennzeichnen hohe Intensitäten.

Korrektur liefert somit einen stetigen Signalverlauf<sup>14</sup>. Zur Erhöhung der Auflösung in der Betrachtung der Phasendifferenz unterschiedlicher Messungen bietet es sich somit an, eine Referenzgerade, z.B. der Wassermessung, zu subtrahieren. Dies wurde in Abbildung 3.20 bei der exemplarischen Messung verschiedener Lösungsmittel vorgenommen. Aus der Steigung der Subtraktionsgeraden lässt sich nach Gleichung 3.37 die Ausbreitungsgeschwindigkeit der SAW bestimmen. Bei der in Abbildung 3.20 gezeigten Messung wurde mit Wasser beispielsweise im Intervall von 152 MHz bis 156 MHz eine Steigung von  $371,5 \pm 0,7 \text{ } ^\circ\text{MHz}^{-1}$ , bzw. etwa  $0,97 \text{ MHz pro } 360^\circ$  ermittelt. Mit  $3500 \text{ } \mu\text{m}$  bzw.  $l_{\text{eff}} = 4265 \text{ } \mu\text{m}$  Länge der Laufstrecke berechnet sich die Geschwindigkeit der Welle zu etwa  $3392 \text{ m/s}$  bzw.  $4133 \text{ m/s}$ . Die gleiche Rechnung liefert für die Messung mit Ethanol  $3416 \text{ m/s}$  bzw.  $4163 \text{ m/s}$  und für Methanol  $3474 \text{ m/s}$  bzw.  $4233 \text{ m/s}$ <sup>15</sup>. Vergleicht man die Geschwindigkeiten, die sich aus der effektiven Laufstrecke berechnen, kann davon ausgegangen werden, dass  $l_{\text{eff}}$  sich bei Beladung mit Flüssigkeit verändert. Dies wird zusätzlich plausibel, wenn die dabei auftretende Änderung der Kapazität berücksichtigt wird. Es soll ausserdem betont werden, dass beim verwen-

<sup>14</sup>Der Signalverlauf entsteht aus der Winkelbildung gemäß  $\varphi = \text{Arctan}\left(\frac{K_{\text{Anal1}}}{K_{\text{Anal2}}}\right)$ . Ein fallender oder steigender Verlauf unterliegt somit der entsprechenden Definition der Anteile.

<sup>15</sup>Der Fehler wird vergleichbar mit dem der Wassermessung angenommen.

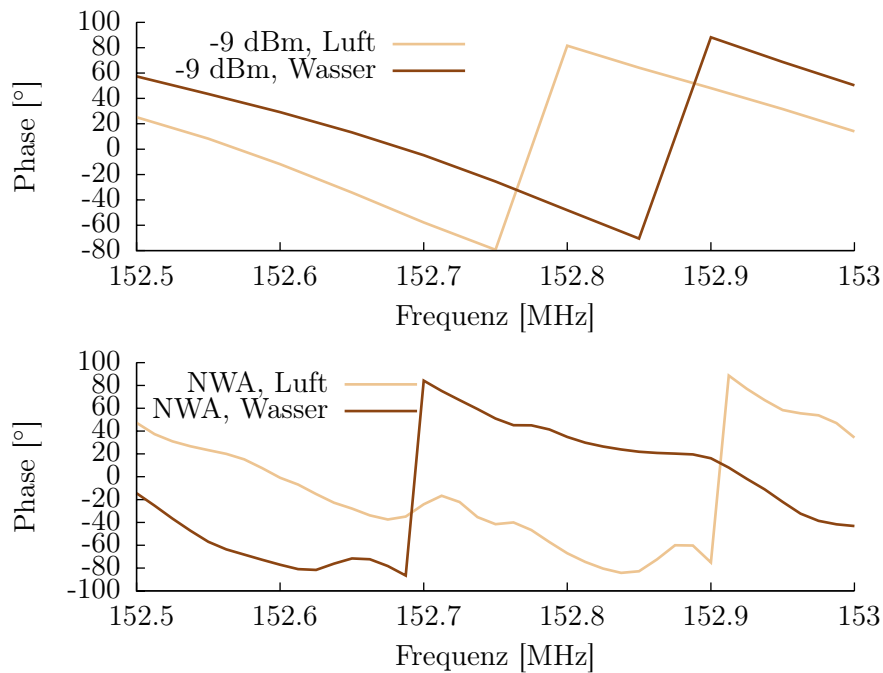


Abbildung 3.19: Vergleich der Phaseninformationen bei Messung mit eigenem Aufbau und der Messung am NWA, wie sie direkt durch die Messgeräte geliefert werden. Gemessen wurde jeweils an Luft und in Wasser. Die Kanten entstehen bei Vorzeichenänderung des Messsignals und die Winkelbildung über den  $\arctan$ . Zwischen den beiden Messungen liegen Phasendifferenzen von über  $360^\circ$  zusätzlich zum gemessenen Abstand.

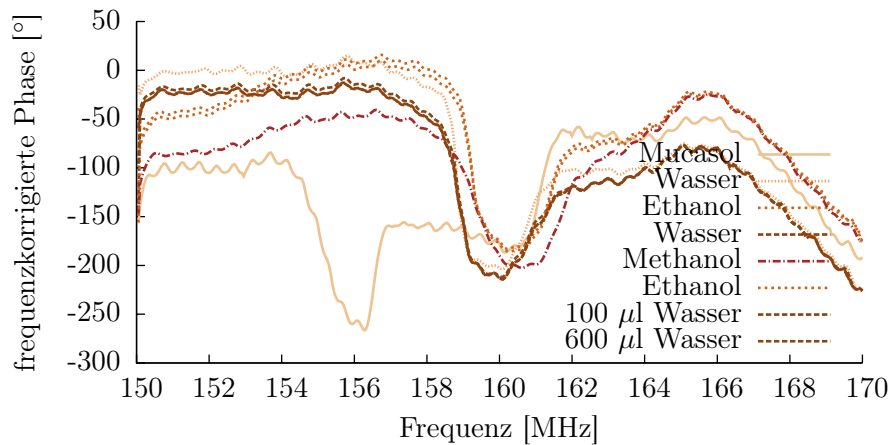


Abbildung 3.20: Änderung der Phaseninformation bei Messung verschiedener Substanzen in der Reihenfolge der Messdurchführung. Die erste Wasser-Messung zeigt im Vergleich zu den Folgemessungen einen Phasenversatz, der frequenzabhängige Verlauf bleibt jedoch erhalten. Ethanol, Methanol und Wasser lassen sich deutlich unterscheiden. Der Phasenunterschied ist jedoch im Bereich des Transmissionsmaximum (etwa 153 bis 157 MHz) *nicht* konstant.

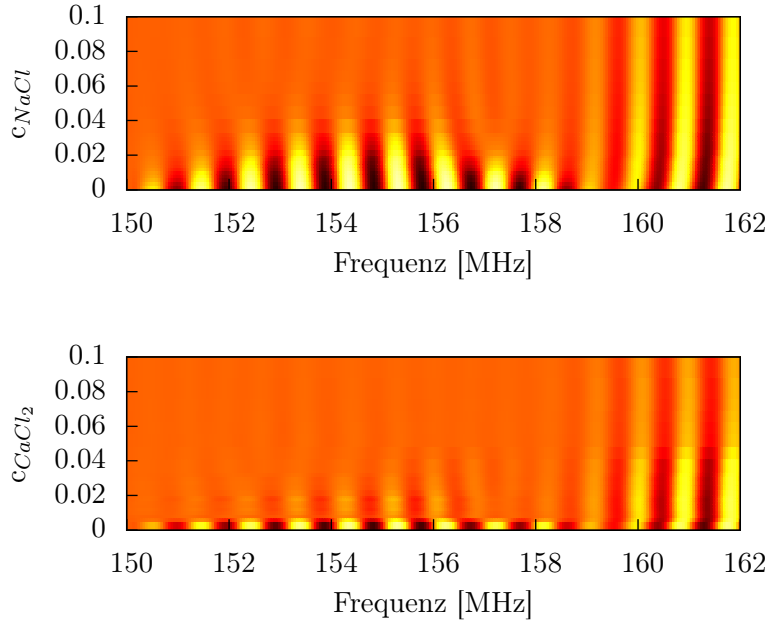


Abbildung 3.21: Frequenzabhängige Transmissionsintensität (*cos*-Anteil) in Abhängigkeit der Salzkonzentration. Oben: *NaCl*, unten *CaCl<sub>2</sub>*.  $P_G = -3$  dBm.

deten Sensor Laufstrecke und IDTs mit einer dünnen<sup>16</sup> Glasschicht überzogen sind, wodurch sich ebenfalls eine Laufzeitveränderung einstellen sollte. Diese Werte können deshalb nur schwer einem direkten Vergleich mit Literaturdaten unterzogen werden. Blickt man auf die Verschiebung des Transmissionsmaximum, z.B. in Abbildung 3.16, die sich bei der Beladung mit Flüssigkeit einstellt, ermittelt man etwa 0,4 MHz, bzw. einen Korrekturfaktor  $f_k \approx 0.9974$ . Bezogen auf den Literaturwert der Geschwindigkeit von  $c_{SAW} = 4150$  m/s berechnet sich damit eine konsistente Geschwindigkeit von  $f_k \cdot c_{SAW} \approx 4139$  m/s. Die Auswirkungen einer erhöhten Leitfähigkeit der Flüssigkeit sind in Abbildung 3.21 zu erkennen. Dargestellt ist der *cos*-Anteil der frequenzabhängigen Transmissionsintensität in Abhängigkeit der Salzkonzentration. Bereits bei einer Konzentration von etwa 15 mmol/l NaCl halbiert sich das Sensorsignal. Im Hinblick auf den in Kapitel 3.2.1 erläuterten Effekt der akustoelektrischen Dämpfung würde man bei Erhöhung der Leitfähigkeit eine Kopplung zwischen Dämpfung und Geschwindigkeitsänderung erwarten. Die dafür benötigte Leitfähigkeit wird jedoch erst bei stark erhöhter Salzkonzentration erreicht, wie in Abbildung 3.22 gezeigt wird. Das Dämpfungsmaximum wird bei etwa 60 mmol/l NaCl erreicht. Ein vergleichbarer Wert wurde auch von Strobl [92] ermittelt. Für SAW-

<sup>16</sup>Schichtdicke  $d$  etwa 100-300 nm  $\ll \lambda_{SAW}$

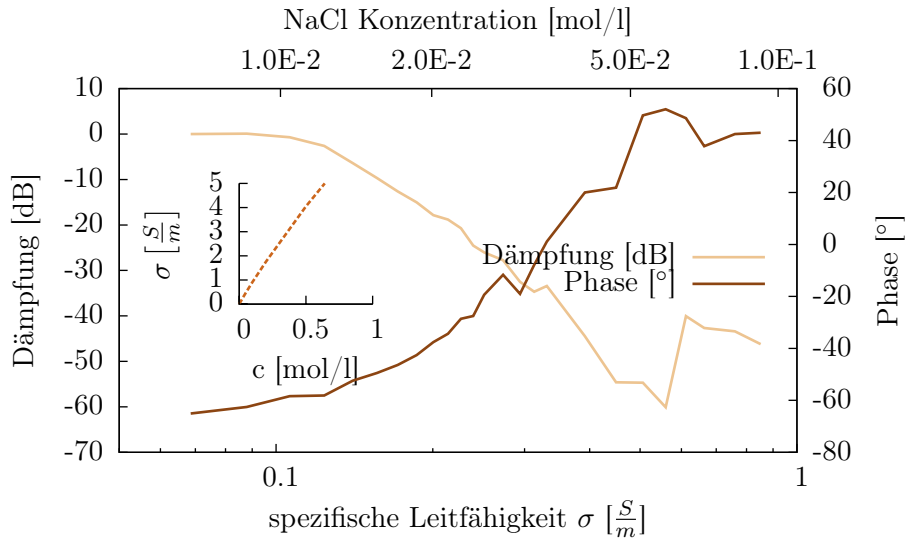


Abbildung 3.22: NaCl-Lösungen: Abhängigkeit von Dämpfung bzw. Phase von der Leitfähigkeit der Salzlösung. Zusätzlich ist der Zusammenhang von Leitfähigkeit und NaCl-Konzentration nach [49] angetragen.

Untersuchungen an Lipidmembranen ist es deshalb unerlässlich, Referenzmessungen am Lösungsmittel durchzuführen, um sicherzustellen, dass der gemessene Effekt der Membran und nicht dem veränderten Sensorsignal zugeordnet werden kann. Idealerweise werden die Untersuchungen bei geringen Salzkonzentrationen durchgeführt. Messungen im Zellmedium werden sich aufgrund der hohen Salzkonzentration von etwa 120 mmol/l NaCl als ausgesprochen schwierig erweisen und können mit dem vorhandenen System nicht durchgeführt werden. Die hohe Leitfähigkeit bewirkt eine starke Signaldämpfung und somit Verschlechterung des Signal-Rausch-Verhältnisses. Im Diagramm ist zusätzlich der Zusammenhang von Leitfähigkeit und NaCl-Konzentration nach *Landolt-Börnstein*[49] angetragen. Der lineare Bereich wird dabei bereits bei Konzentrationen kleiner als 1 mmol/l verlassen. Erwähnenswert ist, dass die verbesserte Beschreibung dieses Zusammenhangs durch das *Ostwaldsche*-Verdünnungsgesetz bzw. weiterentwickelte Theorie durch *Debye*, *Hückel* und *Onsager* für den starken Elektrolyten NaCl ebenfalls nur bis etwa 10 mmol/l anwendbar sind. In deren Gültigkeitsbereich beschreiben sie die Leitfähigkeit mit einer wurzelförmigen Konzentrationsabhängigkeit. Ausserdem besitzen die spezifischen Leitfähigkeiten eine ausgeprägte Temperaturabhängigkeit, z.B. ermittelt man aus den Angaben der Ionenleitfähigkeiten für NaCl etwa 2% Leitfähigkeitsänderung pro Grad Temperaturänderung[46].

## Kapitel 4

# Sensorik an Lipidmembranen

Für das in den vorangegangenen Kapiteln beschriebene System werden im folgenden exemplarische Beispiele zur Charakterisierung der Entstehung von festkörpergestützten Phospholipidmembranen (SLB) aus kleinen unilamellaren Vesikeln (SUVs) aufgezeigt. Darüberhinaus bietet die SAW-Sensorik auch eine empfindliche Möglichkeit für die Untersuchung von Phasenübergängen sowie die Beobachtung von Adhäsionsvorgängen an bestehenden Membranen.

Für die bislang vorgestellten Untersuchungen der Systemeigenschaften wurde jeweils ein bestimmter Frequenzbereich ausgemessen und nach Betrag und Phase analysiert. Im Bereich des Transmissionsmaximum konnte ein näherungsweise linearer Frequenz-Phasenverlauf ermittelt werden. Der Phasenabstand, z.B. zwischen einer Messung an Luft und einer weiteren bei Beladung des Systems mit Wasser, blieb in diesem Bereich nahezu konstant. Dies kann nun dazu benutzt werden, die zeitliche Auflösung zu erhöhen: Während der Erfassung des Vorgangs wird die Frequenz festgehalten und der Verlauf der beiden Signalanteile<sup>1</sup> ausgewertet. Die Charakterisierung bzw. Gültigkeit dieses Vorgehens kann durch vorausgehende, bzw. nachfolgende Messung über einen Frequenzbereich erfolgen. Im Aufbau wurde eine zeitliche Auflösung von unter einer Sekunde erreicht<sup>2</sup>.

### 4.1 Zeitliche Entwicklung der Membranentstehung

In Abbildung 4.1 ist die frequenzabhängige SAW-Messung bei Beladung mit Wasser im Vergleich zu der Messung mit angelagerter Biomembran aus Soja-

---

<sup>1</sup> $(\frac{1}{2} \cdot AB(t) \cos(\Delta\varphi) \text{ und } \frac{2}{2} \cdot AB(t)(\sin \Delta\varphi))$

<sup>2</sup>Prinzipiell sind deutlich kleinere Zeiten möglich. Die Grenzen werden durch die benötigte Zeit für das Auslesen der Daten, sowie der maximal möglichen Frequenzen der Analogelektronik bestimmt.



bohnenextrakt<sup>3</sup> (Soy) dargestellt (Vorher-Nachher-Messung). Im Bereich des Transmissionsmaximums der Scherwelle (etwa 150 MHz bis 157 MHz) ist im  $\cos(\varphi)$ -Anteil (oben) die entstandene Verschiebung bezüglich der Wasserreferenz deutlich zu erkennen. Bei etwa 160 MHz findet eine Modenkonzersion statt, wie man der Änderung der Phasenbeziehung deutlich erkennen kann. Bei Frequenzen über 165 MHz liegen die beiden Signale identisch aufeinander. Unten: Betrachtet man die Phasenbeziehung der beiden Signale relativ zueinander und subtrahiert die frequenzbedingte Steigung, findet man im Bereich des Maximums die erwartete, konstante Phasenlage. Diese beträgt bei dem benutzten Sensor und dem untersuchten System etwa  $70^\circ \pm 5^\circ$ . Der Fehlerbereich resultiert vorwiegend aus dem Effekt, dass der nicht perfekt lineare Phasenverlauf durch die Laufzeitveränderung gegeneinander verschoben ist. Dadurch liegen bei der Bildung der Differenz unterschiedliche Ausprägungen aufeinander. Im Frequenz-

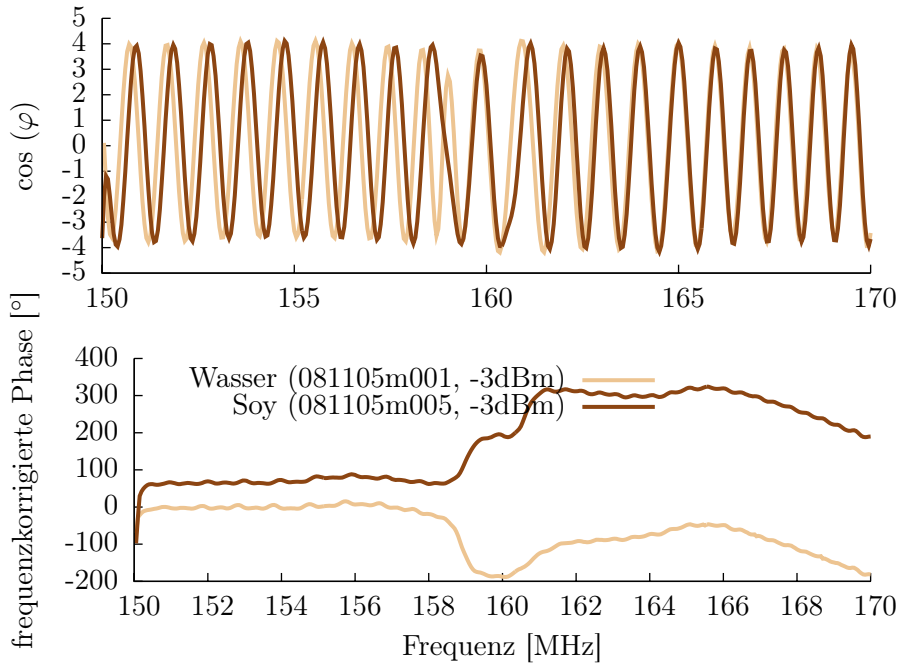


Abbildung 4.1: Vergleich der frequenzabhängigen SAW-Messungen bei Wasser und mit angelagerter Soy-Membran bei Raumtemperatur. Oben:  $\cos\varphi$ -Signalanteil. Unten: Frequenzkorrigierter Phasenverlauf, d.h. die durch die Frequenzerhöhung bedingte Phasenänderung von etwa  $375^\circ\text{MHz}^{-1}$  wurden subtrahiert.

bereich des Übergangs spalten sich die beiden Phasen auf. Da diese Dehnung der Periodizität des Übergangsbereichs nicht mehr kompensiert wird, ergibt sich bei den Frequenzen von mehr als 165 MHz eine konstante Phasenlage von  $360^\circ$  - die einzelnen Signalanteile (oben) sind somit deckungsgleich. [Abbildung 4.2](#)

<sup>3</sup>Lipidgemisch mit natürlicher Zusammensetzung

zeigt ein typisches Bild der zeitlichen Entstehung dieser Verschiebungen, wobei die Zugabe von CTAB (siehe folgender Abschnitt) den Anlagerungsvorgang sichtlich beschleunigt. Es hat sich herausgestellt, dass der absolute Zeitverlauf, d.h. sowohl die Verschiebung der Phasenlage, als auch die Charakteristik der Anlagerungskurve stark vom Sensortyp abhängig sind. Prinzipiell wird jedoch ein deutlicher Zusammenhang zur Temperatur der Vesikellösung erkennbar. In Abbildung 4.3 sind Messungen für DMPC und Soy-Lipid bei 3 verschiedenen Temperaturen gezeigt. Die Erhöhung auf 30°C, also nur etwa 5°C über Raumtemperatur bewirkt in etwa eine Verkürzung des Vorgangs wie sie bei Raumtemperatur durch Zugabe von etwa 10% CTAB erreicht wird. Der Absolutwert der Phasenverschiebung schwankte bei den abgebildeten Messungen um etwa 10°. Die Kurven wurden deshalb für die Vergleichsdarstellung auf einen gemeinsamen Endwert normiert. Im nicht gezeigten Amplitudensignal findet man nur geringfügige Änderungen. Nimmt man an, dass die Dichten gespreiteter Membranen in einem ähnlichen Bereich liegen, wie in Filmwaagenexperimenten eine Plateau-Ausbildung der DMPC-Isothermen erfolgt<sup>4</sup>, siehe Abbildung 4.4, erhält man für bei einer angenommenen Fläche von 60 Å<sup>2</sup> pro Molekül und einer Molekülmasse von etwa 700 g/mol einen Massebelag durch einen Bilayer von etwa 4 ng/mm<sup>2</sup>. Nagle und Tristram-Nagle berechnen für ihren Review Artikel [62] Korrekturen für eigene und Literaturwerte und geben für DMPC-Bilayer bei 30°C eine Fläche von 59.6 Å<sup>2</sup> pro Molekül an. Wird dieser Massebelag elastisch an die Oberfläche gekoppelt, wird keine Amplitudenänderung erwartet.

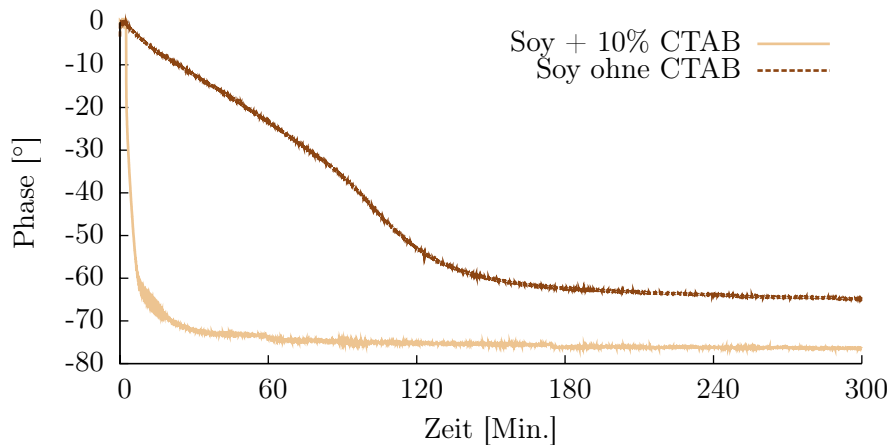


Abbildung 4.2: Typischer Zeitverlauf des Phasensignals bei Anlagerung von Soy-Lipid-Vesikeln (Soy-SUVs) bei Raumtemperatur. Die Zugabe von 10 mol% des kationischen Tensids CTAB beschleunigt den Anlagerungsvorgang erheblich.

<sup>4</sup>Filmwaagen erlauben die Untersuchung eines Lipid-Monolayers auf einer Wasseroberfläche. Durch die Größenänderung des Wasserbeckens mit einer verschiebbaren Barriere kann der laterale Druck in der Membran eingestellt werden.

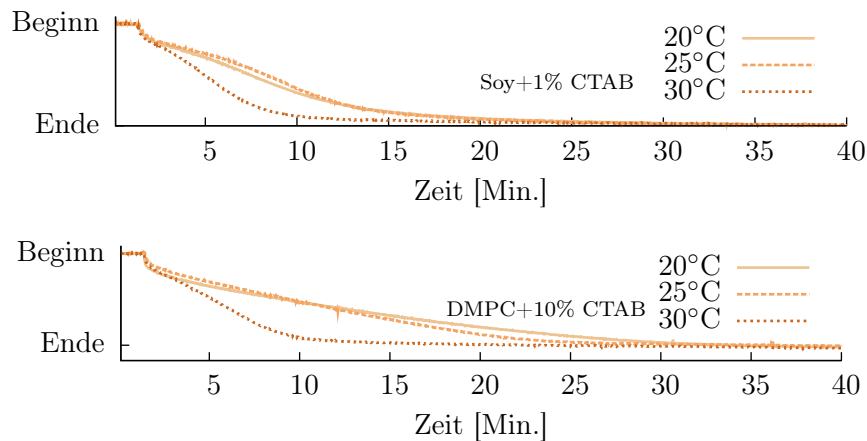


Abbildung 4.3: Typische Anlagerungskurven von SUVs aus DMPC bzw. Soy-Lipid, bei verschiedenen Temperaturen.

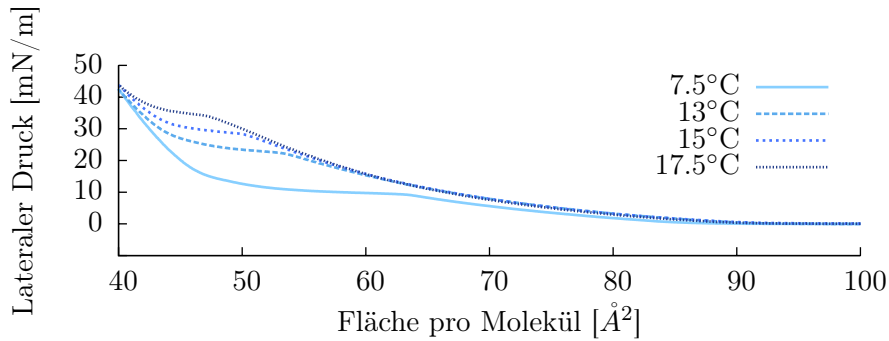


Abbildung 4.4: Filmwaagen-Isothermen von DMPC-Monolayern (D. Steppich).

#### 4.1.1 CTAB

Es zeigt sich, dass die Zugabe von 10 mol% Cetyltrimethylammoniumbromid (CTAB, siehe Moleküldarstellung), einem kationischen Tensid mit einer  $C_{16}$  Alkylgruppe (Cetyl- bzw. Hexadecylkette),

den Anlagerungs-/ Spreitvorgang erheblich beschleunigt. CTAB wird bereits zu Beginn der Vesikelherstellung dem chloroformgelösten Lipid beigegeben. Die Zeit verkürzt sich im dargestellten System etwa um den Faktor 3 auf die Dauer von

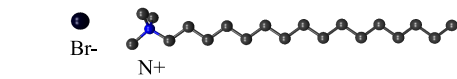


Abbildung 4.5: Kugelstabmodell des CTAB-Moleküls [13]

unter einer Stunde. Im Verlauf der Messungen hat sich gezeigt, dass CTAB-Konzentrationen kleiner 5% keine derart ausgeprägte Veränderung der Spreit-Charakteristik hervorruft. Die beobachtete Wirkung von CTAB war nicht auf Soy-Lipid beschränkt. Ähnliches Verhalten zeigte sich beispielsweise auch bei den PC-Lipiden DMPC, D15PC und DPPC. Es wird davon ausgegangen, dass

CTAB als integraler Membranbestandteil vorliegt. Ein Verdacht, der durch die Verschiebung der Übergangstemperaturen, wie sie mit dem Mikrokalorimeter (DSC, *Differential Scanning Calorimetry*) gemessen werden, unterstützt wird. In Abb. 4.8 finden sich Beispiele solcher Messungen. Demnach kommen primär zwei Funktionsmechanismen in Betracht: a) Die Ladung des eingebauten Moleküls erhöht die elektrostatische Wechselwirkung mit den polaren OH(-) Gruppen der Substratoberfläche. b) Das Molekül unterscheidet sich in Struktur und Länge von den Lipiden der Matrix. Die vergleichsweise hohe Konzentration an CTAB führt zu topologischen Veränderungen der Vesikel. Bei Anlagerung bildet sich ein größerer Kontaktbereich aus, die mechanischen Spannungen im Vesikel werden erhöht und ein Aufplatzen des Vesikels erleichtert. Es wird nicht davon ausgegangen, dass durch den Einbau des CTAB-Moleküls die mechanische Verspannung der Vesikeloberfläche erhöht wird. Während der Vesikel-Herstellung zeigt sich beim Quellen in Anwesenheit von CTAB eine optische Klärung der sonst trüben Lipidlösung. Dies bedeutet, dass es zur Ausbildung kleinerer Strukturen kommt, die durch optische Streuung hervorgerufene Trübung verschwindet. Darüberhinaus konnte eine erhöhte Stabilität der CTAB versetzten SUV-Lösung beobachtet werden. Die fertige Lösung tendiert ohne CTAB bei Lagerung nach einigen Tagen wieder zur Eintrübung, CTAB haltige Lösungen verzögern diesen Effekt deutlich, z.T. um Wochen <sup>5</sup>. Die so hergestellten Lipidvesikel besitzen typischerweise Größen von 20-50 nm [96], wie z.B. mit dynamischer Lichtstreuung ermittelt werden kann. Obwohl die in Abbildung 4.7 gezeigte Messung darauf hindeutet, dass steigende CTAB-Konzentrationen zu kleineren Vesikeln führt, konnte dieser Zusammenhang bis zum aktuellen Zeitpunkt nicht zweifelsfrei geklärt werden. Zur Klärung wird eine systematische Untersuchung der Herstellung benötigt, beispielsweise über den Einfluss des Rüsselbeschallers (*tipsonicator*). Dieser deponiert je nach Eintauchtiefe der Sonitrode unterschiedlich viel Energie und führt dabei gleichzeitig zu einer unterschiedlich starken Erwärmung der Lipidlösung. Darüberhinaus zersetzt sich die Sonitrode beim Betrieb in nicht unerheblichem Maß, wie z.B. durch die Metallrückstände verdeutlicht wird, die sich nach dem Zentrifugieren der beschallten Lipidlösung am Gefäßboden sammeln. Die Metallpartikel, die sich in beschalltem Reinstwasser befinden können aber auch durch Messung, beispielsweise mit DLS, nachgewiesen werden. Eine Möglichkeit diese Einflüsse zu unterbinden besteht in der Vesikelherstellung durch sogenannte Extruder. Bei diesen wird die Lipidlösung durch

---

<sup>5</sup>Prinzipiell könnte die Trübung bei Lagerung auch durch eingeschlossene Bakterien hervorgerufen werden, jedoch wurden alle Fläschchen vorher mit Chloroform gespült, als Wasser wurde ausschließlich Millipore-Wasser eingesetzt und die Fläschchen im Kühlschrank verschraubt gelagert

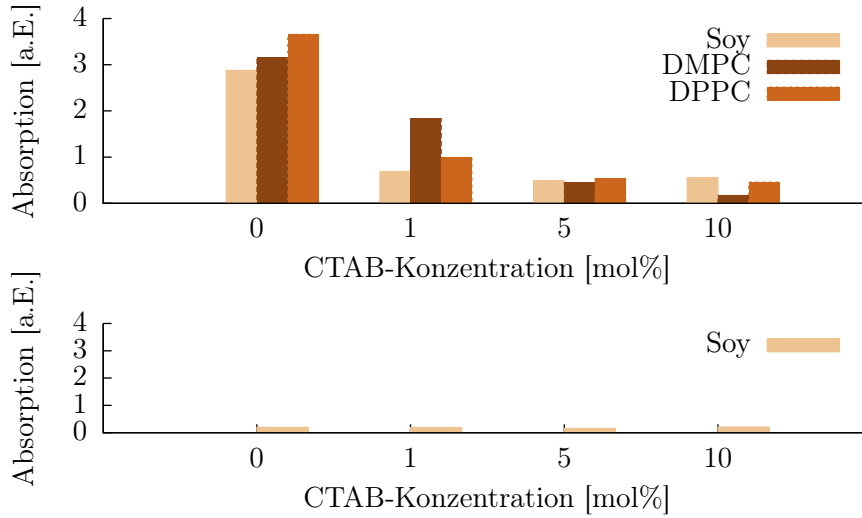


Abbildung 4.6: Oben: Vergleich der optischen Dichten von in Wasser gelösten Lipide in Abhängigkeit der CTAB-Konzentration. Gemessen wurde bei  $\lambda = 500 \text{ nm}$ . Unten: Soy-SUVs, nach der Ultraschallapplikation. Die Lösungen erscheinen optisch transparent.

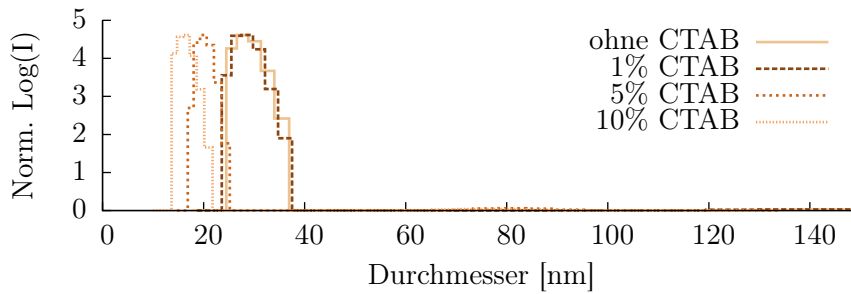


Abbildung 4.7: Typische Größenverteilung frisch hergestellter DMPC-Vesikel in Abhängigkeit der CTAB-Konzentration.

nanoskalige Membranen gepresst, die Größenverteilung der entstehenden SUVs wird vorwiegend durch die eingesetzten Membranen bestimmt und erlaubt die Vesikelherstellung über einen breiten Größenbereich [66].

#### 4.1.2 Phasenumwandlungen

Phospholipide zeigen eng begrenzte strukturelle Ordnungs- Unordnungsübergänge, sogenannte Phasenübergänge, wie bereits ausführlich in Kapitel 2.2.3 beschrieben wurde. Im folgenden Kapitel dieser Arbeit wird gezeigt, dass auch in planaren festkörpergestützten Membranen ein Phasenübergang stattfinden kann und es möglich ist, diesen mit der beschriebenen SAW-Sensorik nachzuweisen. Üblicherweise werden Phasenübergänge an Lipiden im Mikrokalorimeter vermessen. Bei festkörpergestützten Membransystemen ist diese direkte

Methode wegen der vergleichsweise geringen Lipidmenge schwierig einzusetzen. *Alaouie* und *Smirnov* behelfen sich deshalb durch nanoporöses Material mit einer mittleren Porengröße von zirka 200 nm, mit welchem sie eine 500-fache Erhöhung der Oberfläche im Vergleich zu planarem Material erzielten. Die gewünschten DMPC-Bilayer erzeugten sie durch Vesikelspreiten [1]. Interessanterweise zeigte ihr System eine deutlich ausgeprägtere Abhängigkeit der Phasenübergangstemperatur von der Scanrate, als die Kalorimeter-Vergleichsprobe mit reinem DMPC, die Phasenübergangstemperatur stieg dabei von etwa 23,5°C bei 0,1 °C/Min. bis etwa 24,5°C bei 1,75 °C/Min. an. Der Peak der  $C_p$  kurve wird dabei stärker erhöht und verbreitert, als in der Vergleichsmessung. Eine andere Untersuchungsmöglichkeit zeigen *Linseisen et. al.* in [54], indem sie eine Idee von *Bayerl* [4, 5] aufgreifen. Sie beschichten Silica-Nanopartikel mit Lipid-Bilayern (SSV) bzw. mit gestützten Monolayern (SSM) und führen daran  $^2\text{H}$ -NMR und DSC-Untersuchungen durch. Die von ihnen untersuchten SSM aus deuteriertem DPPC zeigten interessanterweise eine leichte Verringerung der Phasenübergangstemperatur, wohingegen für SSM Proben, in Abhängigkeit der Membrandichte, Erhöhungen der Phasenübergangstemperatur festgestellt wurden. Insgesamt ist bei den festkörpergestützten Systemen eine deutlich reduzierte Ausprägung der Phasenumwandlung zu erwarten. Im vorangegangenen Kapitel wurde die Bedeutung der CTAB-Zugabe für die Herstellung der Bilayermembran durch Vesikelspreiten betont. Dieser Einfluss zeigt sich auch anhand der Phasenumwandlungstemperatur der verwendeten Phospholipide, und begründet die Annahme, dass sich CTAB in die Phospholipidmembran integriert. Auffallend ist die deutliche Erhöhung der Hauptübergangstemperatur  $T_m$  von etwa 0,5°C bei Zugabe der maximalen Konzentration von 10 mol% CTAB. Trotz hoher Konzentrationen ist bei Soy-Extrakt erwartungsgemäß [42] im Bereich von 15°C bis 60°C *kein* Phasenübergang zu erkennen.

### SAW-Messung des Phasenübergangs bei DMPC

In Wasser befindliches DMPC zeigt ein scharf ausgebildetes Maximum in seinem Wärmekapazitätsprofil, wie z.B. aus der Mikrokalorimetermessung in Abbildung 4.8 ersichtlich ist. Da der dort stattfindende Übergang der sogenannten  $L_{\beta'}$  Phase in die  $L_{\alpha}$  Phase mit zirka 24°C im Bereich der Raumtemperatur liegt, bietet dieses Lipid einen experimentell vergleichsweise leichten Zugang zu seinen verschiedenen Zuständen. Zur SAW-Untersuchung gespreiteter Membranen, wurde der Sensorchip auf ein temperaturgeregeltes<sup>6</sup> Peltierelement plazierte. Mit diesem konnten Temperaturen von 15°C bis 35°C erreicht werden. Die Temperatur

---

<sup>6</sup>Cooltronic TC2812-RS232, Schweiz

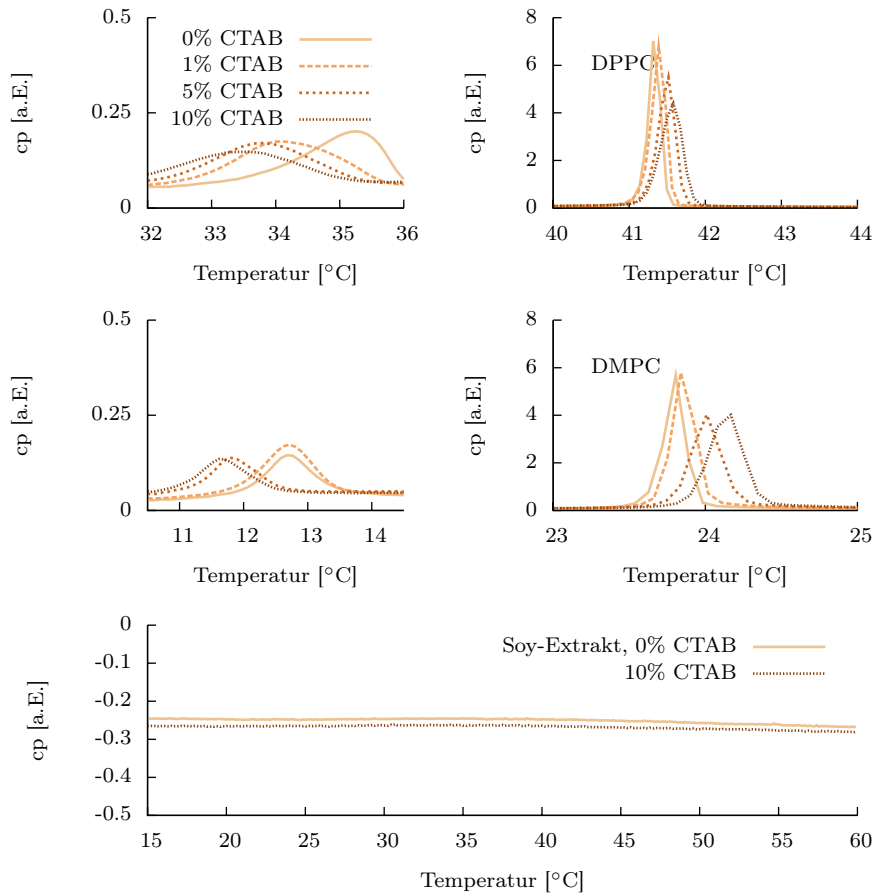


Abbildung 4.8: Bestimmung der Phasenübergangstemperatur bei verschiedenen CTAB-Konzentrationen mit dem Mikrokalorimeter. Messparameter:  $20\text{ }^{\circ}\text{C/h}$ ; Konzentrationen von DPPC und DMPC jeweils  $1\text{ mg/ml}$ , und Soy-Extrakt  $4\text{ mg/ml}$ . Die Übergangstemperaturen der Vorumwandlung  $T_P$  (links) und der Hauptumwandlung  $T_m$  (rechts) verschieben sich durch CTAB deutlich und gegenläufig: Erstere wandert zu niedrigeren Temperaturen,  $T_m$  verschiebt sich zu höheren. Das Soy-Extrakt zeigt *keine* Phasenumwandlung.

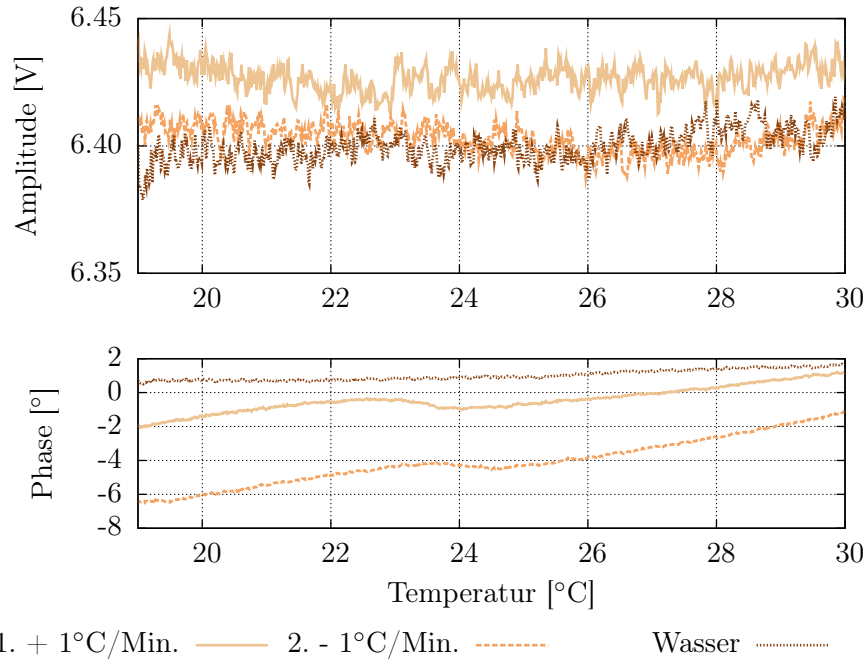


Abbildung 4.9: SAW-Messung: Amplituden- und Phasenwinkel in Abhängigkeit von der Temperatur. Messparameter: 1 °C/Min, 152.2 MHz, -6 dBm. Zum Vergleich wurde eine Messung in Wasser, ohne Membran, gegenübergestellt.

wurde in der Flüssigkeit, in zirka einem Millimeter Abstand zur Membran, mit einem PT-100 Widerstandsthermometer gemessen. Nach dem Spreiten wurde die Küvette mehrmals mit Wasser gespült, um überschüssiges Lipid zu entfernen. Die Phasenübergangstemperatur wird aus dem Phasenwinkel der Messkurve zu  $24 \pm 0.5$  °C abgeschätzt. Im Vergleich zu den Kalorimetermessungen deutet dies darauf hin, dass ein Teil des CTAB in der Membran eingebaut bleibt<sup>7</sup>. Im Amplitudensignal ist erwartungsgemäß keine signifikante Änderung ersichtlich.

Die Gegenprobe mit anderen Lipiden zeigte ebenfalls keine vergleichbaren Änderungen im Phasensignal. Artefakte, die zu einem Knick im Phasensignal bei der DMPC-Messung führten, sind somit auszuschließen.

#### 4.1.3 Bindungsphänomene und Membran-Nanopartikel Wechselwirkung

Neben den bisher beschriebenen Möglichkeiten, die Untersuchung des Spreitverhaltens der Vesikel und möglicher Phasenumwandlungsphänomene betreffen, bietet sich die Flüssigkeitssensorik mit akustischen Oberflächenwellen auch für die Untersuchung von Adhäsionsphänomenen und Bindungsphänomenen auf be-

<sup>7</sup>Der so generierte Ladungseinbau wird für die Anbindung von Makromolekülen an die Membran ausgenutzt, siehe im Kapitel Aktorik.



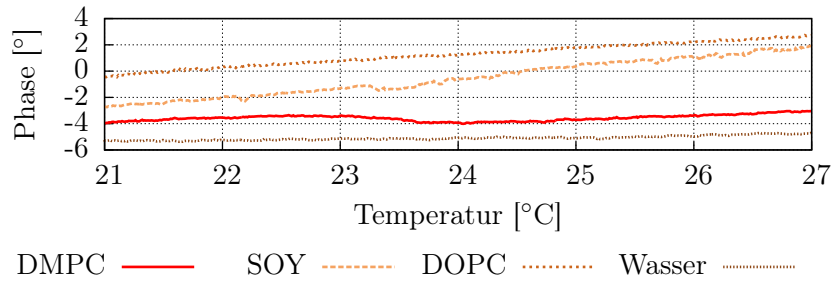


Abbildung 4.10: Temperaturabhängigkeit des Phasenwinkels für verschiedene Lipide. In der DMPC-Messung ist im Bereich des erwarteten Phasenübergangs ein deutlicher Knick im Kurvenverlauf zu erkennen. Zur Darstellung wurden die Kurven in vertikaler Richtung gegeneinander verschoben. Messparameter: steigend 1°C/Min, Frequenzen zwischen 152.2 und 152.5 MHz, -6 dBm.

stehenden Membranen an. Dies wird im folgenden exemplarisch demonstriert. Der bekannte Versuchsablauf wird dafür lediglich erweitert: Nachdem die Membranentstehung durch Vesikelspreiten abgeschlossen ist, wird die Messkammer wie bisher mehrmals mit Wasser gespült um überschüssiges Lipid, bzw. nicht gespreitete Vesikel zu entfernen. Ausgehend von diesem definierten Anfangszustand kann die Signaländerung bei Zugabe einer weiteren Substanz verfolgt werden.

## Nanopartikel

Die Möglichkeit, Adhäsionsvorgänge nachzuweisen kann beispielsweise bei Zugabe von funktionalisierten Nanopartikeln erfolgen. Ein Beispiel einer solchen Anlagerungsmessung ist in Abbildung 4.11 dargestellt. Auf eine bestehende Soy-Membran wurden nach mehrmaligen Spülen mit Wasser und einer verbleibenden Wassermenge von etwa 150  $\mu\text{l}$  etwa 50  $\mu\text{l}$  einer Partikellösung einer Konzentration von 0,2 mg/ml zugefügt. Als Partikel standen Gold-Partikel mit einer Funktionalisierung aus 11-Mercapto-1-Undecansulphonat (MUS) mit einem Gesamtdurchmesser von  $4,3 \pm 1,0$  nm zu Verfügung, von denen bekannt ist, dass sie Zellmembranen durchdringen können, ohne die Membran zu zerstören [94].

### 4.1.4 Software Phasenregelung

In allen gezeigten SAW-Messungen dieser Arbeit wurde die Strategie verfolgt, den zeitlichen Phasenverlauf zu ermitteln, indem bei fester Frequenz das Messsignal mit zwei 90° phasenverschobenen Referenzsignalen multipliziert und ausgewertet wird. In der Auswertung kann Betrag und Phase gebildet werden.

In Anlehnung an die Resonator-Idee der QCM-Messungen kann auch eine

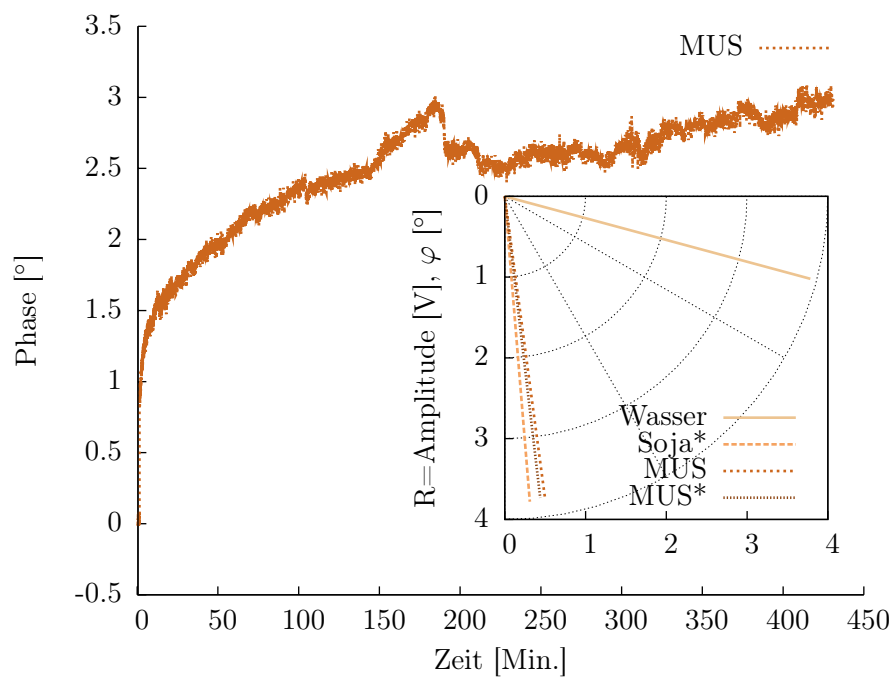


Abbildung 4.11: Messung des Phasenwinkels bei Zugabe von funktionalisierten Nanopartikeln zu bestehender Soy-Membran. Zusätzlich sind in der kleinen Darstellung die vorher / nachher gemessenen Phasenwinkel eingetragen. Ausgehend von der Messung an Wasser, verschiebt die Anlagerung der Soymembran das Phasensignal deutlich. Die Zugabe der Nanopartikellösung hebt einen Teil der Verschiebung wieder auf. Ein abschließendes, mehrmaliges Spülen mit Wasser(\*) wird nochmals als kleine Signaländerung verzeichnet.

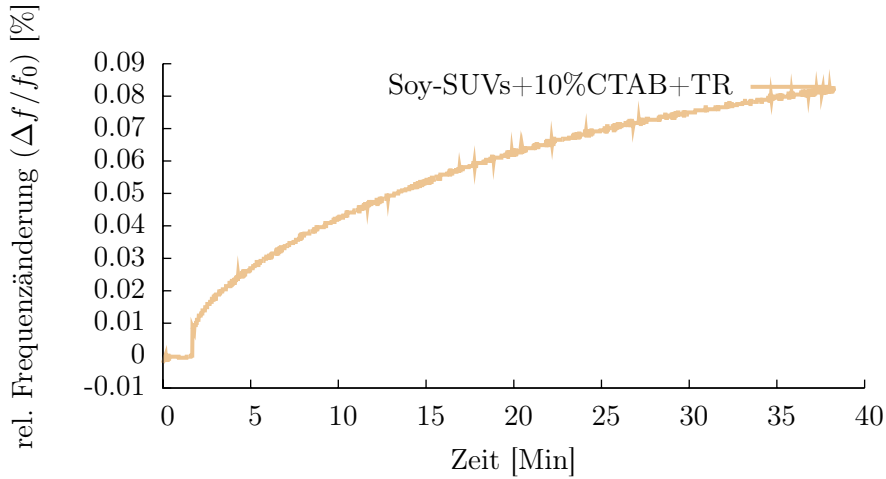


Abbildung 4.12: Exemplarische Messung der Membranentstehung aus Soy-SUVs mittels Software-PLL. (200  $\mu\text{L}$  Wasser, Zugabe von 50  $\mu\text{L}$  Soy-SUVs (1 mg/ml, inkl. 10%CTAB, TR), frisch ultrabeschallt,  $P=-3$  dBm,  $f_M=154$  MHz, Toleranz: 10 mV)

Frequenzanpassung bei fester Phasenlage erfolgen. Eine einfache Phasenregelung (PLL)<sup>8</sup> lässt sich per Software realisieren: Dem System wird eine Startfrequenz  $f_M$  vorgegeben. Idealerweise wird  $f_M$  so gewählt, dass ein Nulldurchgang in einem der beiden Signale auftritt, da das verbleibende Signal ( $90^\circ$ ) dann direkt der Amplitude entspricht. Während der Messung wird die Abweichung vom Nulldurchgang ermittelt und die Frequenz des Signalgenerators nachgeregelt, bis wieder ein Nulldurchgang erreicht ist. Die Aufzeichnung des nachfolgenden Werts geschieht erst, wenn der Nulldurchgang innerhalb eines festgelegten Toleranzbereichs erreicht ist. In Abbildung 4.12 ist eine Messung mit Soy-SUVs dargestellt. Die prinzipielle Funktion konnte somit demonstriert werden, jedoch erwies sich die Vorgehensweise als unvorteilhaft: Während in den üblichen Messungen jeder Datenpunkt aufgenommen wird, kommt es durch die Regelung zu zusätzlichen Totzeiten. Diese sind umso größer, je stärker die Abweichung ist, d.h. je mehr Iterationsschritte zur Frequenzanpassung benötigt werden. Besonders am Anfang der Messung, d.h. nach der Zugabe, wirkt sich dies negativ aus. Große Totzeiten bergen zudem die Gefahr der Schwingungsneigung des Systems. Darüberhinaus muss die Zeit, die für die interne Frequenzeinstellung des Signalgenerators benötigt wird berücksichtigt werden. In dieser Arbeit wurde die Arbeit mit Software-Phasenregelung deshalb nicht weiterverfolgt.

<sup>8</sup>PLL, *phase locked loop*

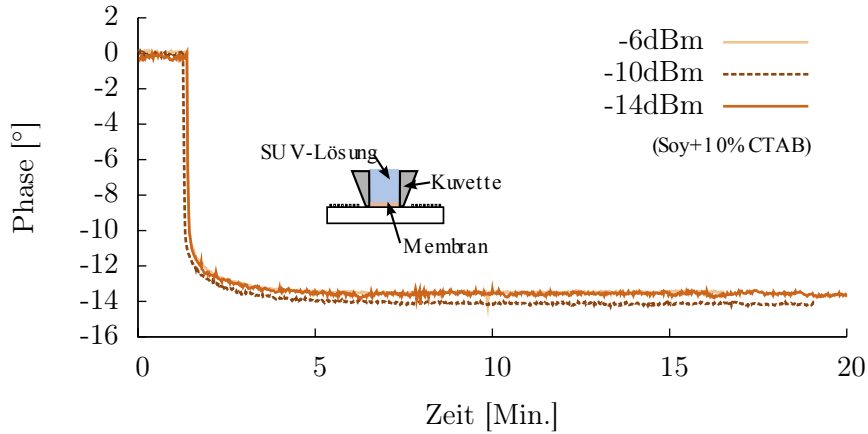


Abbildung 4.13: Exemplarische Messung der Membranentstehung aus Soy-SUVs (200  $\mu\text{L}$  Wasser, Zugabe von 50  $\mu\text{L}$  Soy-SUVs (1 mg/ml, inkl. 10%CTAB), frisch ultrabeschallt). Gemessen mit modifizierter Küvette (siehe Skizze). Der Anlagerungsbereich wurde auf den Bereich der Laufstrecke begrenzt. Die effektive Länge der Laufstrecke reduzierte sich auf unter einen Millimeter

#### 4.1.5 Sensitiver Bereich vs. ganzer Chip

Alle bisher gezeigten Messungen wurden mit der in Abbildung 3.7 (b) dargestellten Sensorgeometrie durchgeführt. Bei Anlagerungsvorgängen wurden deshalb sowohl die Laufstrecke als auch Sende- und Empfangs-IDTs belegt. Dies wirft instantan die Frage auf, welche Auswirkung diese Belegung auf die Messung ausübt. Zu diesem Zweck wurde ein Sensor modifiziert: Eine Kunststoff-Küvette wurde auf den Bereich der Laufstrecke aufgeklebt. Die IDTs verbleiben ausserhalb der Küvette. Eine beispielhafte Messung zur Membranentstehung aus Soy-SUVs, bei der diese Konfiguration benutzt wurde, ist in Abbildung 4.13 dargestellt. Der prinzipielle Signalverlauf ist identisch mit den bisherigen Messungen, siehe beispielsweise Abbildung 4.2, jedoch sind die Änderungen im absoluten Phasenwinkel etwa um den Faktor 5 kleiner als in den Vergleichsmessungen. Diese deutliche Reduktion ist durch die starke Verkürzung der Laufstrecke plausibel: Allein durch die Verkürzung wird eine Verringerung um etwa Faktor 3,5 erwartet. Gleichzeitig demonstriert die Messung, dass die kapazitiven Änderungen der IDTs im betrachteten Membransystem verhältnismäßig klein ausfallen. Geht man in einer einfachen Annahme davon aus, dass sich zwar an der Substratoberfläche ein Bilayer ausbildet, die darüberliegenden SUVs jedoch nicht aufplatzen, dominiert der Wasseranteil den Zwischenraum der IDTs. Da die Gesamtkapazität der Anordnung durch die Parallelschaltung aus Substratkapazität und Fingerkapazität gebildet wird, verringert sich der Einfluss der Lipidschichten weiter. Mit einer AC-Kapazitätsmessbrücke können diese Ände-

rungen der Kapazität während der Anlagerung zwar nachgewiesen werden, mit dem Netzwerkanalysator ist jedoch keine signifikante Änderung des Reflexions-signals (S11) des IDTs ersichtlich.

In fast allen Experimenten dieser Arbeit wurde mit mehrmaligem Spülen nach der Membrananlagerung die SUV-Lösung aus der Küvette entfernt. Bei diesem Vorgang wird zwar eine kleine Phasenänderung sichtbar, im Vergleich zur Verschiebung während Anlagerung ist diese aber vernachlässigbar klein.

Im Vergleich der Messkurven in Abbildung 4.13 wird ein weiterer interessanter Aspekt deutlich: Eine Veränderung der SAW-Leistung macht sich *nicht* als resultierende Phasenänderungen bemerkbar. D.h. im untersuchten Leistungsbe-reich wird das Messergebnis nicht durch die Wahl der Anregungsleistung be- einflusst. Die Wahl der *optimalen* Anregungsleistung hängt damit primär von den sonstigen Rahmenbedingungen, z.B. den Pegeln der Auswertelektronik, der maximal zulässigen Materialbeanspruchung etc. ab.

#### 4.1.6 Zusammenfassung und Bewertung

Das SAW-Sensorsystem bietet die Möglichkeit die Entstehung einer nur etwa 4nm dicken Biomembran systematisch zu beobachten. Dabei zeigte sich, dass der zeitliche Verlauf der Membranentstehung aus kleinen unilamellaren Vesikeln da- bei von mehreren Faktoren abhängig ist: Von den verwendeten Phospholipiden ergaben die Experimente mit Soy-Extrakt bei Umgebungsbedingungen die am besten reproduzierbaren Ergebnisse. Die Entstehung einer Membran aus diesem Lipid ließ sich durch Änderungen des Phasenwinkels von etwa 60°-80° nachwei- sen. Wie mit der zeitlichen Fortsetzung der Messungen belegt werden konnte, sind die so erzeugten Membranen an die Oberfläche gebunden und werden auch durch intensive Wasserspülung nicht abgelöst. Die verzeichneten Unterschiede der Endwerte der gemessenen Phasenwinkel von bis zu 20°, deuten dabei auf noch zu ergründende Veränderungen der Messkammer, der Sensoroberfläche und der Vesikellösungen hin. Ein entscheidender Faktor für die Reproduzierbarkeit ist die adäquate Reinigung der Messkammer. In dieser Arbeit wurde versucht zwischen allen Experimente möglichst identische Reinigungsprozeduren einzu- bauen. Neben Ethanol wurde zur wirksamen Membranentfernung eine 1%ige Lö- sung des alkalischen Reinigungsmittels *Mucasol*<sup>9</sup> eingesetzt und durch anschlie- ßende intensive Spülung mit Wasser wieder entfernt. Es bleibt jedoch offen, in wie weit sich die Eigenschaften der Substratoberfläche durch die Reinigungspro- zedur verändern können. Generell kommt der SiO<sub>2</sub>-Oberflächenbeschichtung des

---

<sup>9</sup> *Mucasol*, Merz Consumer Care GmbH, Frankfurt. *Mucasol* ist ein alkalisches Reinigungs- mittel (pH 11, enthält Trikaliumphosphat).

Substrats sowie der Reinigung enorme Bedeutung zu. Die Beschichtung definiert sowohl Ausbreitungseigenschaften der Oberflächenwelle, die mögliche Empfindlichkeit des Sensorsystems, als auch über ihre chemischen Eigenschaften die Art und Weise der Membranbildung aus den Vesikeln. Zusätzlichen Einfluß zeigten die Vesikel selbst: Beispielsweise zerfallen die durch Ultraschallung erzeugten SUVs nach einigen Tagen zu größeren multilamellaren Strukturen und können erst nach erneuter Ultraschallbehandlung wieder verwendet werden. Die kontinuierlich stattfindende Veränderung der Lösungen führt jedoch bereits nach einigen Stunden Lagerung zu erkennbaren Unterschieden in den gemessenen Kurven. Es hat sich außerdem herausgestellt, dass die Zugabe des kationischen Tensids CTAB bei der Herstellung der Vesikel die spätere Membranentstehung deutlich beschleunigt. Es wird vermutet, dass diese Effekte aufgrund der zusätzlichen Ladung der Vesikel-Membran beruhen, was zu einer verstärkten attraktiven Wechselwirkung mit der Substratoberfläche führt. Ausserdem konnte eine deutlich erhöhte Haltbarkeit der SUV-CTAB-Lösungen festgestellt werden: Die in der SUV-Membran eingebauten Ladungen unterdrücken den Hang zur Vesikel-Vesikel Fusion. Die Entstehung eines Membran-Bilayers aus Soy-Extrakt wird unter Verwendung von 10 mol% CTAB auf etwa 30 Minuten abgeschätzt. Ohne CTAB verlängert sich der Prozess um etwa einen Faktor 3-5. Hier nicht aufgeführte Einzelergebnisse mit anderen Lipid-Typen lassen ähnliche Schlüsse bezüglich der Zugabe von CTAB zu. Da reine Lipide jedoch in ihren Wärmekapazitätsprofilen ausgeprägte Phasenübergänge zeigen, welche mit signifikanten Änderungen der elastischen Eigenschaften verbunden sind, ist ein einfacher Vergleich der Zeiten zur Membranbildung bei verschiedenen Lipiden nicht sinnvoll. Dies könnte beispielsweise durch eine separate, umfangreiche parametrisierte Untersuchung erfolgen. Über die Beobachtung der Membranentstehung hinaus, kann der Aufbau auch zur Untersuchung der Phasenumwandlung an festkörpergestützten Membranen eingesetzt werden. Dies konnte mit DMPC-Membranen, deren Phasenumwandlungstemperatur bei zirka 24°C liegt, belegt werden. Die Möglichkeit, nicht nur Adhäsionsvorgänge, sondern strukturelle Veränderungen der Membran zu detektieren eröffnet ein weites Einsatzgebiet. So lassen sich z.B. auch Wirkstoffe auf ihren Einfluss auf Membraneigenschaften untersuchen.

Mit Oberflächenwellen lassen sich außerdem Wechselwirkungsprozesse zwischen der Membran und ihrer Umgebung nachweisen, Am Beispiel funktionalisierter Nanopartikeln könnte die SAW-Sensorik zur Beantwortung der aktuellen Frage bezüglich der Gefährlichkeit von Nanomaterialien wichtige Antworten liefern.

## Kapitel 5

# Akustische Oberflächenwellen für aktorische Anwendungen

Während im Bereich der Sensorik die Messung selbst zu einer möglichst geringen Veränderung des Systems führen soll, ergibt sich für aktorische Anwendungen eine genau konträre Anforderung, d.h. die maximal effiziente, kontrollierbare Beeinflussung eines Systems. Akustische Oberflächenwellen erweisen sich dabei als universell einsetzbares Werkzeug. Obwohl relativ schnell nach der Veröffentlichung von *White* und *Voltmer* [98] im Jahr 1965, zur effizienten Anregung von SAWs durch die Verwendung von IDTs, das enorme Potential dieses physikalischen Effekts in der Kommunikationstechnik, in der Gassensorik und später auch für den Bereich der Flüssigkeitssensorik entdeckt wurde (vgl. Kapitel 3), dauerte es einige Jahre bis akustische Oberflächenwellen als *aktive* Elemente genutzt wurden. Dies ist umso verwunderlicher, weil beispielsweise die Erzeugung von Strömungen durch intensive Schallquellen vermutlich schon *Lord Rayleigh* entdeckt haben mag [18]. Dieses sogenannte *acoustic streaming* wurde über Jahrzehnte als interessanter Effekt, ohne nennenswerte praktische Relevanz betrachtet [53]. Die dadurch hervorgerufene Dämpfung der akustischen Welle führte vielmehr zu Schwierigkeiten in der Entwicklung der Flüssigkeitssensorik (vgl. Kapitel 4). Erst die Entwicklungen der Mikrosystemtechnik führten zur Wiederentdeckung - *Moroney*, *White* und *Howe* veröffentlichten 1990 beispielsweise ihre, auf diesem Prinzip beruhende *Mikropumpe* [60]. Einen größeren Bekanntheitsgrad erlangte der Effekt jedoch erst, als *Wixforth* zeigte, dass sich der Effekt nicht nur zum mikromechanischen Pumpen, sondern auch zum Durchmischen kleiner Flüssigkeitsmengen im Bereich einiger Mikroliter, einsetzen lässt [71, 89, 100]. Über Anwendungen der Fluidik hinaus werden heute akustische Oberflächenwellen auch in Experimenten der Halbleiterphysik eingesetzt, in denen stehende und laufende akustische Oberflächenwellen

zur Ladungstrennung beziehungsweise zum Ladungstransport eingesetzt werden, siehe z.B. [76]. Ausgehend von der Erzeugung stehender akustischer Oberflächenwellen wird im folgenden ein völlig neuartiges Einsatzgebiet aufgezeigt und untersucht - die Erzeugung dynamischer Muster in Biomembranen, sowie Musterbildung und Ausrichtung von membrangebundenen DNA-Molekülen und Proteinen. Dies geht weit über die aus der Literatur bekannten Effekte wie z.B. das Ausrichten von Kohlenstoff-Nano-Röhrchen [91] und Fokussieren von Mikropartikeln, z.B. Latex-Kugeln [102, 93] hinaus. Einerseits werden die in der Membran erzeugten Muster durch einen Effekt hervorgerufen, der sich gänzlich von dem in den genannten Experimenten unterscheidet. Andererseits eröffnet die Mikrostrukturierung von biologischen Membranen und ihren Adsorbaten zusätzliche, neue Zugänge zum Verständnis biophysikalischer Vorgänge. Beispielsweise kann aus dem zeitlichen und räumlichen Zerfall des Musters auf laterale Diffusionskonstanten geschlossen werden.

Im letzten Abschnitt wird die Strömungserzeugung mittels akustischer Oberflächenwellen in mikrofluidischen Kanälen demonstriert. Am Beispiel der Untersuchung der Adhäsion von Mikropartikeln auf Zelloberflächen werden die Vorteile eines solchen Systems deutlich gemacht.

## 5.1 Stehende Oberflächenwellen

Aus der Überlagerung gleichfrequenter, gegenläufiger Wellen kann sich bekanntermaßen eine stehende Welle mit ortsfesten *Knoten* und *Bäuchen* ausbilden, falls zusätzlich gilt, dass beide Wellen gleiche Amplituden aufweisen, sich die Frequenz der Wellen nicht ändert und außerdem Phasenstabilität des Systems vorliegt.

$$y_{L,R} = y_0 \sin(\omega t \pm kx) \quad (5.1)$$

$$y_{Ges} = y_R + y_L = 4y_0 \sin(\omega t) \cdot \cos(kx) \quad (5.2)$$

Der Aspekt der Amplituden verdient wegen vorliegender Dämpfung noch besondere Aufmerksamkeit. In Abbildung 5.1 ist die Überlagerung gegenläufiger Wellen zu verschiedenen Zeitpunkten skizziert. Die Skala der Ortsachse soll einen späteren Vergleich mit den experimentellen Bildern erleichtern. Die stehenden Wellen sind durch eine lokale, zeitlich oszillierende Verspannung des Substratmaterials gekennzeichnet.

$$\frac{\partial y_{Ges}}{\partial x} = -4y_0 k \sin(\omega t) \cdot \sin(kx) \quad (5.3)$$



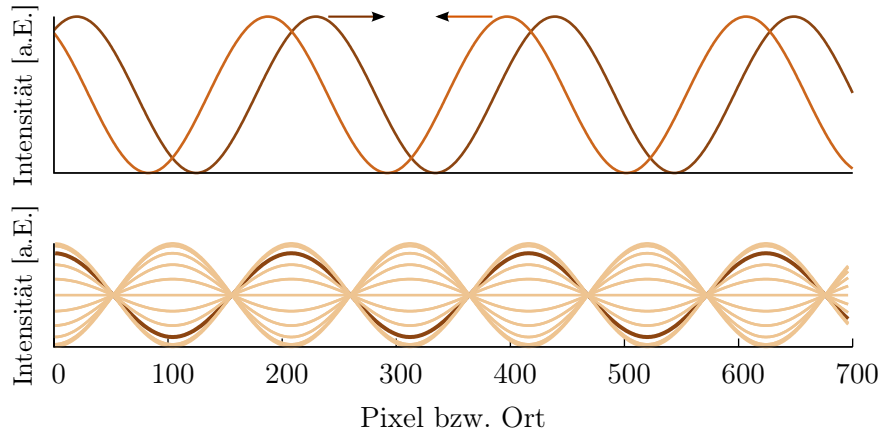


Abbildung 5.1: Prinzip der Stehwellenbildung durch Superposition zweier gegenläufiger Wellen. Oben: rechts und linkslaufende Welle zum Zeitpunkt  $t_1$ . Unten: Überlagerung der Wellen zu verschiedenen Zeitpunkten, Zeitpunkt  $t_1$  ist farblich hervorgehoben. Die Skalierung der horizontale Achse (Pixel) ist so gewählt, das sie einen direkten Vergleich zu den folgenden Mikroskopbildern (100x Objektiv) zulässt.

Die höchste Verspannung wird dabei im Bereich der sich ausbildenden Knoten erwartet, wohingegen die Bäuche Bereiche maximaler Auslenkung bilden. Die obere Einhüllende kann als Betragsbildung angesehen werden. Sie weist deshalb im zeitlichen Mittel die halbe räumliche Periodizität auf.

### 5.1.1 Erzeugungsprinzip und Aufbau

Stehende Wellen werden üblicherweise durch Reflexionen oder durch Überlagerung mehrerer Signalquellen erzeugt. In dieser Arbeit wurde die zweite Möglichkeit - die Überlagerung zweier prinzipiell unabhängiger Wellengeneratoren - gewählt. Im Hinblick auf die Wahl der geeigneten Stimulationsfrequenz, die Möglichkeit der Frequenzänderung, der Amplitudenanpassung der gegenläufigen Wellen und der Möglichkeit einer gezielten relativen Phasen- bzw. Frequenzverschiebung bieten sich so wesentliche Vorteile im Vergleich zu festen Resonator- bzw. Reflektorstrukturen.

Die Oberflächenwellen wurden über zwei gegenüberliegende IDTs erzeugt deren Abstand etwa 3,5 mm beträgt. Die IDTs weisen eine Apertur von etwa 1 mm und eine Periodizität von  $26,6 \mu\text{m}$  auf (vgl. Abbildung 3.3 und 3.12b). Sie sind in ihrem Layout identisch mit den Chips, wie sie für die Sensorik verwendet wurden. Somit ergeben sich bei den Substraten aus  $\text{LiNbO}_3$  und  $\text{LiTaO}_3$  gemäß  $c = \lambda \cdot f$  Arbeitsfrequenzen  $f_0$  von etwa 150 MHz bzw. 155 MHz. Auf  $\text{LiNbO}_3$  kann mit identischen IDT-Strukturen auch in der dazu senkrechten Richtung eine reine Rayleigh-Mode angeregt werden [87, 23]. Die Effizienz ist dabei deutlich

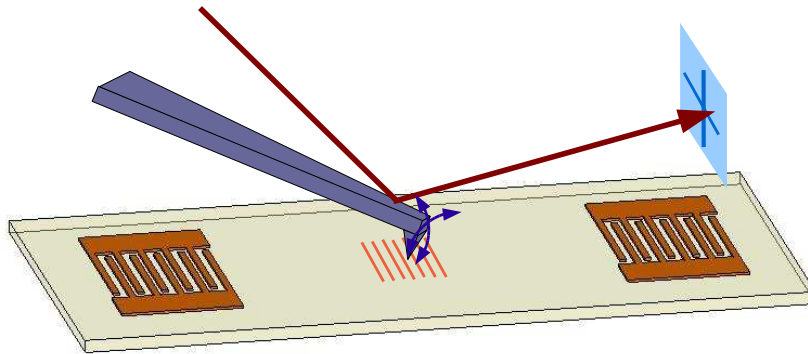


Abbildung 5.2: Prinzip zur Messung stehender akustischer Oberflächenwellen mit Raster-Kraft-Mikroskopie. Angedeutet sind die gegenüberliegenden IDTs zur Wellenerzeugung auf dem piezoelektrischen Substrat, ein Bereich stehender Wellen, sowie die Erfassung der AFM-Kantileverbiegung (laterale und vertikale Ablenkung) mittels Laserstrahl und 4-Quadranten Diode (blau).

geringer, die Resonanzfrequenz lag aufgrund der veränderten Ausbreitungsgeschwindigkeit ( $\approx 3650 \text{ m/s}$ ) bei etwa 135 MHz.

Die Anregung erfolgte über eine Signalgenerator<sup>1</sup>, dessen Ausgangssignal verstärkt<sup>2</sup> und mit einem Leistungsteiler<sup>3</sup> auf die beiden gegenüberliegenden IDTs gespeist wurde. Für die Anordnung mit gekreuzten IDTs (siehe unten) wurde die Anordnung doppelt benötigt, da sowohl Anregungseffizienzen als auch Anregungsfrequenzen der  $90^\circ$  senkrecht zueinander angeordneten IDTs unterschiedlich sind.

### 5.1.2 Visualisierung stehender Oberflächenwellen durch Raster-Kraft-Mikroskopie

Mit dem Raster-Kraft-Mikroskop<sup>4</sup> gelang es, die so generierten stehenden Wellen direkt nachzuweisen und zu untersuchen. Das Prinzip der AFM-Messungen an stehenden Oberflächenwellen ist in Abbildung 5.2 dargestellt ist, Beispiele der Messungen finden sich in Abbildung 5.3. Kolosov [45], Behme [6] und auch Cuberes [15] zeigten, dass für solche Messungen eine ausgeprägte nichtlineare Wechselwirkung zwischen AFM-Spitze (Kantilever)<sup>5</sup> und Substrat notwendig ist. Die Messungen wurden im sogenannten *contact*-Modus durchgeführt, bei

<sup>1</sup>SML, Rhode und Schwarz

<sup>2</sup>ZHL2 bzw. ZHL-2010+, MiniCircuits

<sup>3</sup>ZFSC-2-4+, MiniCircuits

<sup>4</sup>Raster-Kraft-Mikroskopie: (Scanning) Atomic Force Microscope, (S)AFM. Verwendet: NanoWizard BioAFM, JPK Instruments

<sup>5</sup>Die Spitze wird im englischen korrekt als *tip* bezeichnet, während das Torsions- bzw. Biegelement den eigentlichen Kantilever (*cantilever*) darstellt. Wenn nicht anders vermerkt, werden beide Begriffe jedoch häufig synonym verwendet

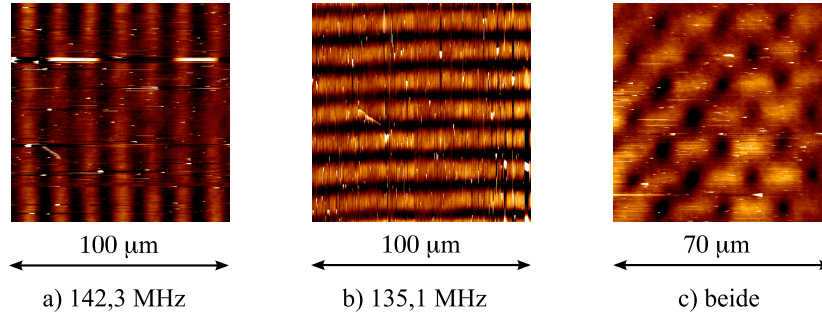


Abbildung 5.3: AFM Abbildung stehender Oberflächenwellen auf  $\text{LiNbO}_3$  in unterschiedlichen Ausbreitungsrichtungen. Gezeigt sind in a)  $128^\circ\text{-LiNbO}_3$ , x-prop.,  $P_{ges} \approx +11 \text{ dBm}$ ,  $f=142.3 \text{ MHz}$ . In b) x $\perp$ -prop.,  $P_{ges} \approx +16 \text{ dBm}$ ,  $f=135.1 \text{ MHz}$ . sowie in c) die Überlagerung, d.h. gleichzeitige Erzeugung in beiden Richtungen,  $P_{ges} \approx +11 \text{ dBm} / +16 \text{ dBm}$ ,  $f=142.3 \text{ MHz} / 135.1 \text{ MHz}$ . Es wurden jeweils identische IDT-Strukturen verwendet, die unterschiedlichen Anregungsfrequenzen und Anregungsleistungen beruhen hauptsächlich auf der Anisotropie des Materials.

der der Kantilever die Probe berührt. Scanraten bis zu  $2 \text{ Hz/Linie}$  waren möglich. Es soll bemerkt werden, dass eine Abbildung periodischer Strukturen mit dem AFM prinzipiell nur dann möglich ist, wenn die Periodizität nicht parallel zur Scanrichtung liegt, also während einer Zeile erfasst wird. Andernfalls wird das Muster durch die automatische Abstandsregelung ausgeglichen. Wie aus dem AFM-Prinzip in Abbildung 5.2 hervorgeht, wird die Ablenkung des Laserstrahls mit einer 4-Quadranten-Diode erfasst. Somit können laterale und vertikale Komponenten unterschieden und einzeln analysiert werden. Im verwendeten Gerät ist es möglich die beiden Auslenkungsrichtungen, sowie eine aus der vertikalen Komponente errechnete Höheninformation auszuwerten. Die in Abbildung 5.3 gezeigten Messungen wurden auf  $\text{LiNbO}_3$  Substrat durchgeführt, dessen Kristallschnitt die effiziente Erzeugung von Rayleigh-Wellen ermöglicht. Rayleighwellen, vergleichbar mit Wasserwellen, sind durch einen starken vertikalen Anteil gekennzeichnet. Im Höhensignal des AFMs war es möglich diesen sichtbar zu machen. Die Auswertung des Höhensignals ergibt dabei Werte in der Größenordnung  $5\text{-}8 \text{ nm}$ . Aufgrund zusätzlicher elektrostatischer Wechselwirkungen bei piezoelektrischen Materialien ist eine Höhenangabe als kritisch anzusehen. Eine Möglichkeit der Höhenbestimmung könnte beispielsweise über optische Beugungsexperimente erfolgen: Bei sinusförmig modulierten Oberflächen kann bei senkrechtem Lichteinfall die Höhe des Beugungsgitters aus dem Verhältnis der Intensitäten der Beugungsordnungen berechnet werden [68]. In identischen Experimenten auf  $\text{LiTaO}_3$  ( $36^\circ\text{YX}$ ) konnte *keine* Periodizität im Höhensignal festgestellt werden. Der verwendete Kristallschnitt des Materials führt zur be-

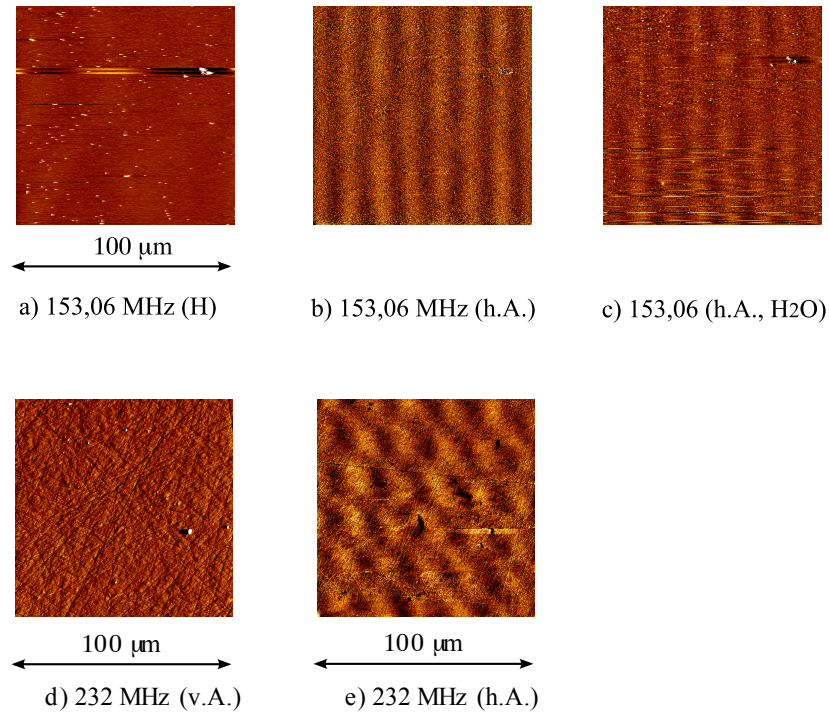


Abbildung 5.4: AFM Abbildung stehender Oberflächenwellen auf LiTaO<sub>3</sub>. Der Ort der Messung befand sich etwa in der Mitte der Laufstrecke. Oben: In der Höhenkomponente a) des AFM-Signals ist keine Periodizität zu erkennen, jedoch in der horizontalen Ablenkung (h.A.). Das Wellenmuster bleibt auch bei der Messung unter Wasser c) erhalten. Verwendete Ausgangsleistung (Generator+Verstärker) +19 dBm. Unten: Wellenanregung gekreuzter und um 45° zur x-Richtung gedrehten IDTs. In der vertikalen Auslenkung, Bild d), ist keine Periodizität zu erkennen. Im korrespondierenden horizontalen Auslenkungssignal, Bild e), wird das Stehwellenbild sichtbar. Die Anregungsfrequenz musste auf 232 MHz erhöht werden. Bei der Aufnahme der beiden Bilder war eine Ausgangsleistung von +22 dBm angelegt.

vorzugten Ausbildung von Scherwellen (SSAWs) - ohne messbare Vertikalkomponente. Im Signalanteil der lateralen Kantileverkomponente (*lateral deflection*) konnte die stehende Wellen auch hier sichtbar gemacht werden.

Wird die zur Stehwellerzeugung anliegende Anregungsfrequenz variiert, lässt sich aus dem gemessenen Höhenprofil ein Frequenz-Höhenverlauf erzeugen, der prinzipiell einem Transmissions-Amplitudengang des Bauteils entspricht. Im Bereich des Transmissionsmaximums lassen sich Stehwellenbilder, wie beispielsweise in Abbildung 5.6, erzeugen. Die dabei auftretende Verschiebung der Bäuche ist *kein* Versatz der Messposition, wie an dem Messartefakt bei  $x \approx 50 \mu\text{m}$  zu erkennen ist. Die Verschiebung resultiert aus dem Auftreten weiterer Knoten und einer geringfügigen Veränderung der elektrischen Anpassung. Aus der Spektraldarstellung kann die Periodizität der Resonanzmode abgelesen werden. Eine genauere Betrachtung der spektralen Intensitätsdaten zeigt, dass eine

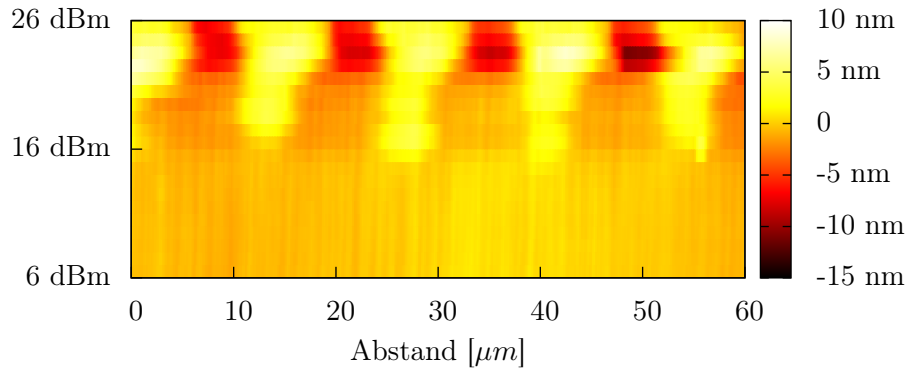


Abbildung 5.5: Leistungsabhängige Stehwellenamplitude auf  $\text{LiNbO}_3$ . Für die Darstellung wurden 21 Zeilenscans am gleichen Ort durchgeführt, wobei die eingestellte elektrische Leistung von +6 dBm bis +26 dBm verändert wurde. Die entstehenden Höhendifferenzen von bis zu 25nm spiegeln wegen der nichtlinearen elektrostatischen Wechselwirkung zwischen Kanti-  
lever und Substratoberfläche nicht die echte Auslenkung wieder.

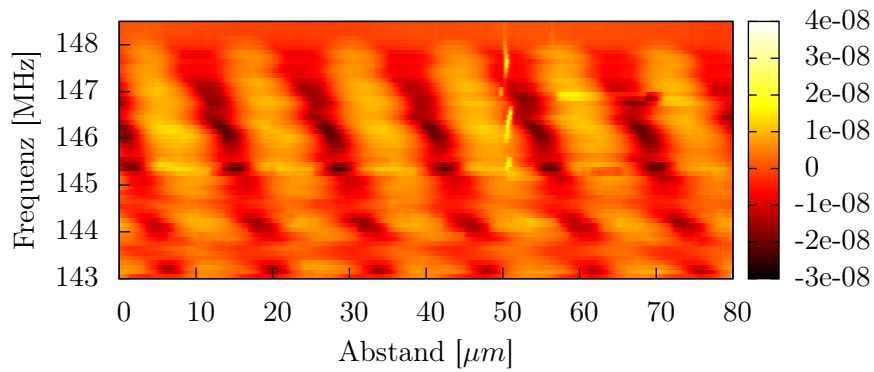


Abbildung 5.6: Frequenzabhängige Stehwellenamplitude auf  $\text{LiNbO}_3$ . Für die Darstellung wurden 56 Zeilenscans am gleichen Ort durchgeführt, wobei die Anregungsfrequenz von 143 MHz bis 148,5 MHz verändert wurde.

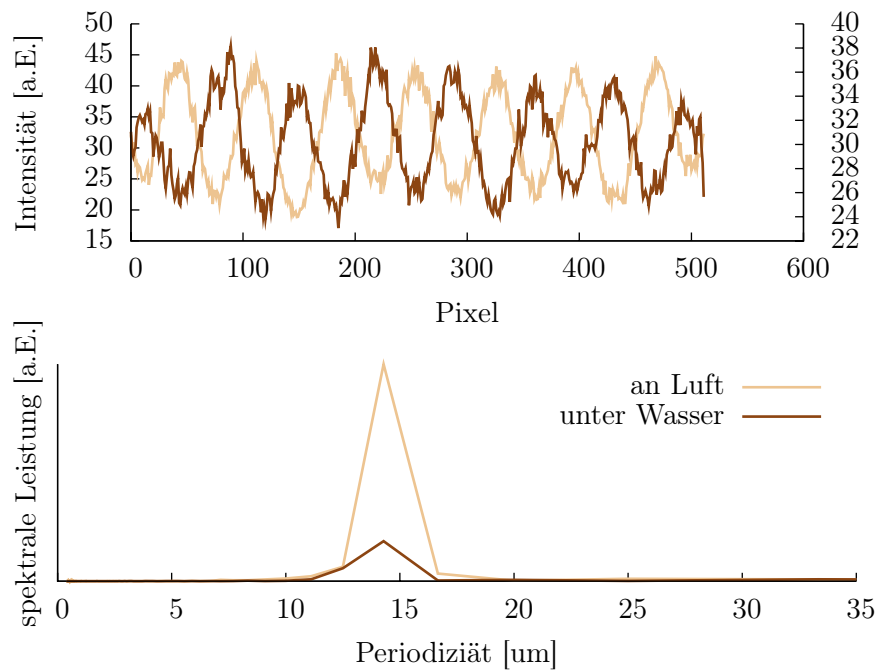


Abbildung 5.7: Oben: Vergleich der summierten horizontalen Intensitätsverläufe aus Abbildung 5.4. Wird der Chip, inklusive IDTs, mit einem Wassertropfen beladen zeigt sich eine Phasenverschiebung, das Wellenmuster aber bleibt sichtbar. Unten: Fouriertransformation obiger Signale. Die Auswertung zeigt die deutlich verringerte Intensität bei Beladung mit Wasser. Die Asymmetrie der Spitzen ist bedingt durch die Zahl der Bildpunkte der Kamera, wodurch der eigentlich vorhandene Wellenvektor einem ganzzahligen Vielfachen von  $\Delta q = 1/512$  (AFM) zugeordnet wird.

signifikante Verschiebung der spektralen Maxima ( $\pm\Delta q$ ) in Spektraldarstellung eine Geschwindigkeitsänderung um -12,6% bzw. +16,8% erfordern würde. Liegt diese unterhalb, wird sie nicht aufgelöst.

$$\Delta q = \frac{1}{N} \quad (5.4)$$

$$q_n = n \cdot \Delta q \quad (5.5)$$

$$P = \frac{L}{x_n \cdot N} = \frac{L}{n} \quad (5.6)$$

Selbst bei einer Verdoppelung der Pixelanzahl (auf 1024) würde die spektrale Auflösung noch zu gering ausfallen, wenn man davon ausgeht, dass eine vollkommen metallisierte Oberfläche eine Änderung der Ausbreitungsgeschwindigkeit gemäß

$$\Delta c_{SAW} = \frac{k_{eff}^2}{2} \cdot c_{SAW} \quad (5.7)$$

hervorruft. Mit  $k_{eff}^2 \approx 5\%$  und  $c_{SAW} \approx 4000 \text{ m/s}$  berechnet sich die erwartete Geschwindigkeitsänderung auf etwa 100 m/s bzw. 2,5 %. Neben der Frequenzanalyse kann die Periodizität des Musters aber auch durch den Fit mit einer Vergleichsfunktion erfolgen. Hierbei umgeht man das durch die Pixelanzahl festgelegte  $\Delta q$ -Intervall. Im Fit mit einer  $\sin(x)$ -Funktion ergeben sich die Werte:  $\lambda_{Luft} = 13,90 \pm 0,02 \mu\text{m}$  und  $\lambda_{H_2O} = 13,62 \pm 0,02 \mu\text{m}$ . Dies entspricht einer Verkürzung der Wellenlänge von ebenfalls etwa 2,5%.

## 5.2 Dynamische Musterbildung in festkörpergestützten Membranen

Festkörpergestützte Lipidmembranen sind seit Jahren ein fest etabliertes Modellsystem zur Nachbildung zellulärer Oberflächen. An diesem lassen sich systematische Untersuchungen bezüglich des Aufbaus, der physikalischen Eigenschaften und der Wechselwirkungen der Membranen mit ihrer Umgebung durchführen [58, 69, 81, 73]. Besondere Vorteile bieten diese Systeme im Vergleich zur Arbeit an großen unilamellaren Vesikeln (*giant unilamellar vesicles*, GUVs) bzw. Phantomzellen und Zellen durch die reproduzierbare, definierte Möglichkeit der Herstellung, bei der sich Zusammensetzung und Eigenschaften in weiten Grenzen frei wählen lassen. Bei allen in der Literatur genannten Systemen ist jedoch die gezielte und kontrollierte Manipulation der SLBs eng begrenzt. Eine solche Manipulation kann beispielsweise durch Nanostrukturierung der Substratoberfläche eine Beeinflussung der Membran und membrangebundener Makromoleküle erfolgen [33, 67, 38], wobei die Oberflächenstrukturen räumlich und zeitlich

fixiert sind. Musterbildung wird ebenfalls in [90] beschrieben. Die Autoren *Stelzle*, *Miehlich* und *Sackmann* belichteten durch Laserinterferenz Streifenmuster in farbstoffmarkierte SLBs und bestimmten Diffusionskonstanten über den Zerfall des Musters. Einen weiteren Ansatz verfolgen beispielsweise die Arbeiten von *Groves*, *Boxer* und *McConnell* [30, 31, 32], in denen sie die Membranzusammensetzung durch Elektrophorese aktiv verändern können. Auch sie unterliegen jedoch den Beschränkungen, die durch die Symmetrie des Aufbaus und der Elektrodenstrukturen vorgegeben werden.

In der hier vorgestellten Arbeit wird eine neue Möglichkeit beschrieben, diese Restriktionen zu umgehen, und SLBs in ihrer räumlichen und zeitlichen Ordnung zu verändern. Dabei wird ausgenutzt, dass die Wechselwirkung von akustische Oberflächenwellen und ihrer Umgebung nicht allein auf den Einsatz in sensorischen Anwendungen beschränkt ist: SAWs und stehende SAWs erlauben die aktive, sowohl zeitliche als auch räumliche Beeinflussung der Substratoberfläche (siehe z.B. Kapitel 5.1), sowie auf dem Substrat befindlicher Flüssigkeiten, wie z.B. [100, 101, 84]. Neuere Arbeiten beschreiben außerdem den Einsatz zum Ansammeln und Ausrichten von Latex-Kügelchen<sup>6</sup> und Kohlenstoff-Nanoröhren<sup>7</sup> [24, 102, 91, 93].

Wie hier gezeigt wird, eignen sich stehende akustische Oberflächenwellen auch zur Manipulation festkörpergestützter Membranen. In den mit Fluoreszenzmarkern versehenen Membranen bilden sich reversible Muster aus. Diese korrespondieren direkt mit den bereits gezeigten Stehwellenbildern. Mustergeneration und -zerfall liefern dabei Einblicke in Organisations- und Diffusionsprozesse. Alle Membranexperimente dieser Arbeit wurden in Zusammenarbeit mit *Martin Hennig* an der LMU-München durchgeführt, dem ich hier meinen besonderen Dank aussprechen möchte.

## Experimenteller Aufbau und Probenpräparation

Werden Oberflächenwellen auf *Rayleighwellen*-Substraten angeregt, die mit einer Wasserschicht beladen sind, kommt es durch sogenanntes *acoustic streaming* zu hohen Dämpfungen der Wellenamplituden. Obwohl mit dem AFM auch bei diesen Substraten Stehwellenbilder unter Wasser aufgezeichnet werden konnten, sind die geringen Auslenkungen und die entstehenden Strömungen problematisch. Als vorteilhaft erwiesen sich Substrate aus  $\text{LiTaO}_3$ , die durch den gewählten Kristallschnitt ( $128^\circ\text{Y}$ ) zur vorwiegenden Ausbildung von Scherwellen führen, und auf denen auch unter Wasser deutlich ausgeprägte Stehwellenmus-

---

<sup>6</sup>sog. *Latex-Beads*

<sup>7</sup>*carbon nano tubes, CNTs*



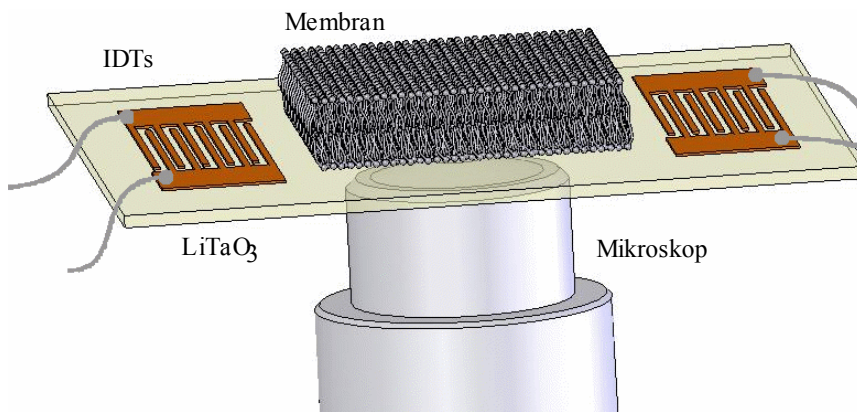


Abbildung 5.8: Skizze des Aufbaus zur Erzeugung dynamischer Muster in Membranen. Die fluoreszenzmarkierte Membran kann durch das dünne Substrat hindurch beobachtet werden. Auf die Darstellung der  $\text{SiO}_2$ -Schicht und des Wasserbelags wurde verzichtet.

ter sichtbar gemacht werden konnten. Für die Details zu Stehwellen, Material und Kristallschnitt sei auf die vorangegangenen Kapitel verwiesen. Für die nachfolgend beschriebenen Experimente wurden beidseitig polierte Substrate mit Dicken von  $400\text{ }\mu\text{m}$  bzw.  $200\text{ }\mu\text{m}$  eingesetzt. Letztere ermöglichen aufgrund des hohen optischen Brechungsindex des Materials mit  $n_0 \approx 2,29$  (bei  $632,8\text{ nm}$ ) [97] den Einsatz eines 100-fach Mikroskopobjektivs<sup>8</sup> für die hochauflösende Beobachtung<sup>9</sup> der Membran durch das Substrat hindurch. Um die Wechselwirkung von stehenden akustischen Oberflächenwellen und festkörpergestützten Lipidmembranen optisch zu untersuchen, wurden die Membranen durch Vesikel-Spreiten hergestellt, wie in Kapitel 2.2.2 beschrieben. Den Vesikeln wurde eine geringe Menge ( $<1\text{ mol}\%$ ) fluoreszenzmarkiertes Lipid TR-DHPE<sup>10</sup> beigegeben. Dieses wird in die Membran integriert. Durch die geringe Konzentration erfolgt nur eine vernachlässigbare Störung der Membraneigenschaften. Für die Membranen wurde Sojabohnen-Lipid (*soy-pc*) bevorzugt, da es sich durch seine natürliche Heterogenität in der Zusammensetzung ideal an die Topografie auf dem Substratmaterial anpassen kann. Dadurch lassen sich, im Vergleich zu reinen Lipiden, fluide Membranen reproduzierbar herstellen. Nahezu identische Ergebnisse konnten auch mit Membranen aus DOPC<sup>11</sup> bzw. auch aus SOPC<sup>12</sup> erzeugt werden.

<sup>8</sup>100x/1.3 an *Axiocvert 100M*, Zeiss, Oberkochen

<sup>9</sup>*Sensicam qe*, PCO, Kelheim

<sup>10</sup>*TexasRed-DHPE* (1,2-dihexadecanoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine, triethylammonium salt), Invitrogen

<sup>11</sup>DOPC, 1,2-Dioleoyl-sn-Glycero-3-phosphocholine

<sup>12</sup>SOPC, 1-stearoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine

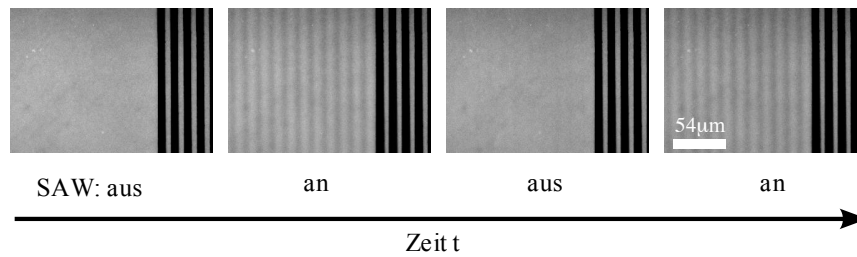


Abbildung 5.9: Musterentstehung und Zerfall: Die Anregung von stehenden Oboflächenwellen erzeugt das Stehwellenbild in einer farbstoffmarkierten Soy-Membran. Die Membran wurde aus Soy-Vesikeln mit 10 mol%CTAB und etwa 1 mol% TR gespreitet. Die Anregung erfolgte mit 153 MHz und +16 dBm. Die metallischen IDT-Strukturen werden als dunkle Streifen (rechts) abgebildet. Aufgenommen mit 20x0,5 Objektiv und LED-Beleuchtung.

## Experimenteller Ablauf

Nach der Reinigung der Anordnung<sup>13</sup> wurde die Messanordnung für etwa 10 Sekunden einem Argon-Plasma ausgesetzt. Durch die Behandlung der Substratoberfläche wird einerseits das Vesikel-Spreiten beschleunigt, andererseits konnte in *continuous-bleaching* Experimenten<sup>14</sup> an Argon behandelten Substraten eine erhöhte Diffusion festgestellt werden. Dies wird einem einige Nanometer dicken Wasserfilm zwischen Substrat und Bilayer zugesprochen, welcher sich nach der Behandlung ausbildet [59]. Eine frisch vorbereitete SUV-Lösung mit einer Lipid-Konzentration von 1 mg/ml (10 mol% CTAB, <1 mol% TR-DHPE) wird für zirka 40 Minuten auf die Substratoberfläche gegeben. Anschließend wird überschüssiges Lipid durch mehrmaliges, intensives Spülen mit Reinstwasser entfernt. Nach dem Spülen erfolgt eine mehrstündige, gewöhnlich über Nacht dauernde Wartezeit, zur Stabilisierung der Membran. Die ausgebildete Bilayer-Membran kann unter dem Fluoreszenzmikroskop mittels bereits erwähntem *continuous-bleaching* kontrolliert und bewertet werden. Der kompakte Aufbau in den Dimensionen eines Mikroskop-Objektträgers erlaubt die gleichzeitige Beobachtung und Stimulation der SAWs dem Fluoreszenzmikroskop, siehe Abbildung 5.8.

## Musterbildung

Nach dem Einschalten der Stehwellenanregung bilden sich innerhalb weniger Sekunden Streifenmuster in der Membran aus, die nach dem Abschalten der

<sup>13</sup>Üblicherweise erfolgte die Reinigung mit *Mucosol*, Ethanol und Wasser, vgl. vorige Kapitel

<sup>14</sup>Beim *continuous-bleaching* wird durch die Mikroskopblende ein Bereich abgegrenzt. Farbstoffmoleküle im Sichtfeld werden gebleicht, neue Farbstoffe können durch Diffusion von außen in den Sichtbereich gelangen. Das Intensitätsprofil gibt Aufschluss über die vorliegende Diffusionskonstante.

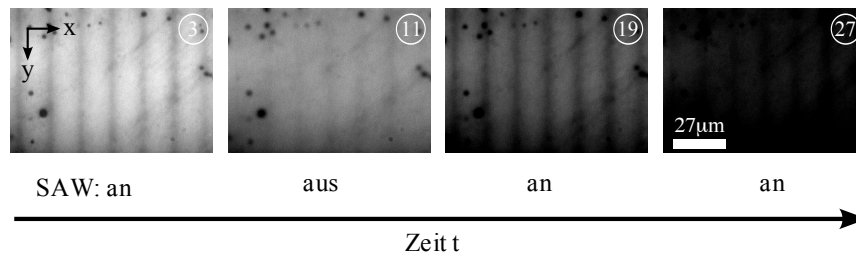


Abbildung 5.10: Stehwellenbild in einer farbstoffmarkierten Soy-Membran. Das UV-Licht der Beleuchtung führt durch Photo-Oxidation zur Zerstörung des Farbstoffs, die Bilder werden immer dunkler. Zwischen zwei Bildern liegen jeweils etwa 16 Sekunden. Aufgenommen mit 100x1,3-Objektiv und HBO-Beleuchtung.

Anregung in etwa gleicher Zeit wieder verschwinden. In Abbildung 5.9 sind vier Aufnahmen einer Bildfolge herausgegriffen, um den reversiblen Charakter dieser Musterbildung zu verdeutlichen. Die Membran bestand aus Soy-Lipid (10 mol%CTAB) und wurde mit etwa 1 mol%TR-DHPE markiert. Die Belichtungszeit lag bei zirka zwei Sekunden pro Bild. Der Entstehungs- und Zerfallsprozess benötigte jeweils einige Sekunden. Der Farbstoff wird durch das intensive UV-Licht sukzessive zerstört, dieser als *bleaching* bezeichnete Effekt führt dazu, dass die Aufnahmen immer dunkler werden. Üblicherweise wird bei Mikroskopaufnahmen eine automatische Anpassung von Helligkeit und Kontrast durch die Kamera durchgeführt. Für eine quantitative Auswertung ist eine solche automatische Korrektur ungeeignet, sie wurde deshalb abgeschaltet. In der in Abbildung 5.10 gezeigten Bildfolge ist rechts oben im Bild die jeweilige Bildnummer eingetragen. Die Belichtungszeit betrug ebenfalls etwa zwei Sekunden pro Aufnahme. Die Aufnahmen wurden hier mit einem 100x-Objektiv erstellt. Die Gesamte Lampenintensität der Quecksilberlampe (HBO) wird auf einem erheblich kleineren Membranbereich abgegeben, im Vergleich mit Abbildung 5.9 wird der Farbstoff dadurch wesentlich stärker bzw. schneller gebleicht, die Bilder werden dunkler. Zusätzlich ist eine ausgeprägte Asymmetrie zwischen hellen und dunklen Bereichen zu erkennen. Wie die folgende Auswertung der Intensitätsverläufe zeigt, ist dies *kein* Darstellungsartefakt. Hierfür werden die Intensitätswerte zeilenweise ( $y$ ) summiert, es entsteht für jedes Bild ein Orts-Intensitätsprofil ( $x$ -I), wie es beispielhaft in Abbildung 5.11 für einen Ein- und Ausschaltvorgang dargestellt ist. Das Ausbleichen des Farbstoffs wird durch die Abnahme der mittleren Intensitäten deutlich. Werden die so generierten Intensitätsverläufe aneinandergereiht, lässt sich der zeitliche Verlauf des ganzen Experiment in einem einzigen Bild zusammenfassen, wie dies in Abbildung 5.12 für die Gesamtsequenz der vorangegangenen Abbildung vorgenommen wurde.

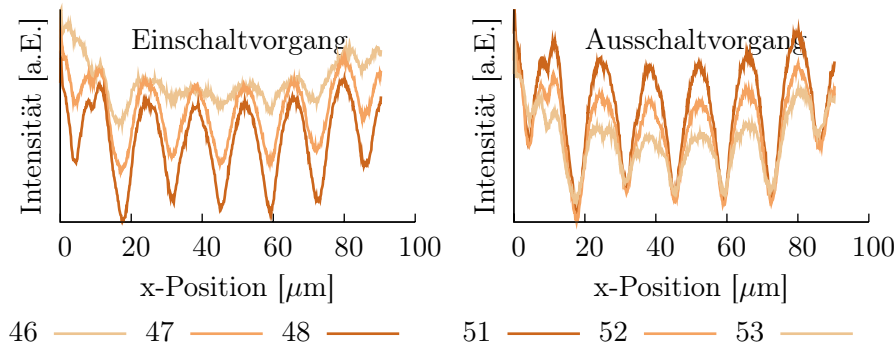


Abbildung 5.11: Intensitätsprofil des Ein- und Ausschaltvorgangs von je drei aufeinanderfolgenden Bildern. Die Zahlen in der Legende bezeichnen die Bildnummern, vgl. z.B. Abb. 5.12.

Von jedem Intensitätsprofil wurde vorab der Mittelwert subtrahiert, um in der Helligkeitskodierung einen deutlichen Kontrast zu erzeugen<sup>15</sup>. Die Änderung der Intensität im Verlauf des Experiments ist in 5.13 dargestellt. Während der SAW-Anregung kommt es zu einer Anhäufung des Farbstoffs in den hellen Bereichen und zu einer Verarmung in den Dunkleren. Ein *quenchen*<sup>16</sup> des Farbstoffs, beispielsweise durch elektrische Felder, würde diese starke Aufspaltung *nicht* erklären und kann somit ausgeschlossen werden. Gleichzeitig erkennt man, dass sowohl Generation als auch Zerfall des Wellenmusters im Bereich einiger Sekunden stattfinden. Die Analyse dieser Vorgänge könnte nun beispielsweise erfolgen, indem in Abbildung 5.12 ein horizontaler Schnitt erzeugt wird, und anhand dessen die Zeitkonstanten abgeschätzt werden. Dies hat jedoch mehrere Nachteile: a) Ein solcher Schnitt spiegelt nur eine einzige Position, z.B. auf einem Wellenberg, einem Tal, oder dazwischen wieder. b) Die zu wählende Position des Schnitts ist willkürlich und kann sich als unvorteilhaft herausstellen. Idealerweise geht man zu einer Auswertung im Fourier-Raum bzw.  $k$ -Raum über [80]. Hierzu werden die Intensitätsverläufe (x-I) der Originalbilder herangezogen (vgl. Abbildung 5.11) und FF-transformiert. Die entstehenden Ortsfrequenzen liegen im Bereich von  $0 \leq q \leq N_x/2$ , mit Pixelanzahl  $N_x$  und Schrittweite  $\Delta q = 1/N_x$ . Für Bilder mit  $N_x = 696$  Pixeln ergibt dies  $\Delta q = 1/696 \approx 0,001437 \text{ Pixel}^{-1}$ . Die Periodizität des Wellenmusters bzw. der IDT-Strukturen beträgt  $\lambda/2 = 13,3 \mu\text{m}$ . Mit einem Umrechnungsfaktor von  $m = 0,13 / \mu\text{m}/\text{Pixel}$  bedeutet dies eine Periodizität von  $102,3$  Pixeln, bzw.  $\frac{q}{\Delta q} = \frac{1/102}{1/696} \approx 6,8$ . D.h. stimmt die beobachtete Periodizität mit der Periodizität der Wellenanregung überein, wird die Grund-

<sup>15</sup> Andernfalls wird durch das Bleichen des Farbstoffs ein zu großer Intensitätsumfang benötigt, um die Musterbildung adäquat darzustellen.

<sup>16</sup> Als *quenchen* wird im Allgemeinen die Unterdrückung der Fluoreszenz bezeichnet, wie dies z.B. durch hohe Farbstoffkonzentration oder hohe elektrische Felder geschehen kann.

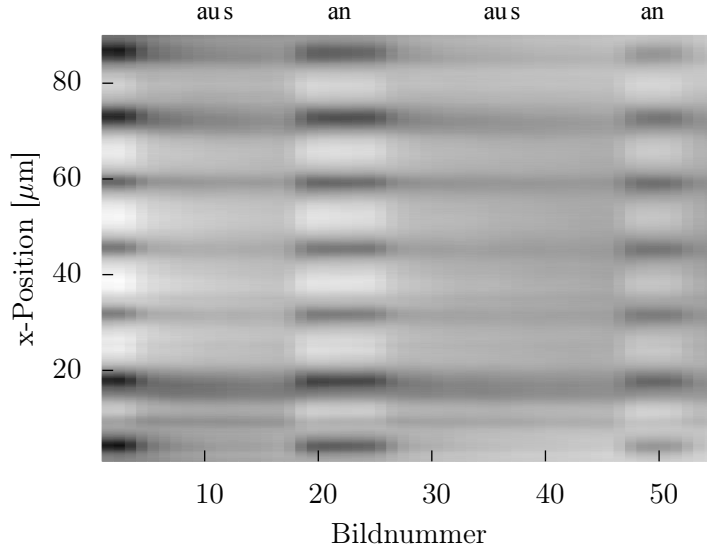


Abbildung 5.12: Die aneinandergereihten Intensitätsverläufe erlauben die Zusammenfassung des gesamten Experiments in einem Bild. Für die Darstellung wurde von jedem Intensitätsprofil der Mittelwert subtrahiert. Zeiten, zu denen die Oberflächenwellen an- (Bildnummer 1-2, 18-25, 46-52) bzw. ausgeschaltet waren, können deutlich unterschieden werden. Jedes Bild wurde für etwa zwei Sekunden belichtet, die Bildfolge erstreckt sich somit über einen Zeitraum von etwa 110 Sekunden.

frequenz wird bei  $7 \pm 1 \Delta q$  auftreten. Die Analyse eines einzelnen Bildes ist beispielhaft in Abbildung 5.14 zu finden, die Aneinanderreihung aller analysierten Bilder lässt die Betrachtung des gesamten Experiments im  $q$ -Raum zu, siehe Abbildung 5.15. Dabei werden in der linearen Darstellung die Unterschiede zwischen den Zeiten mit und ohne Anregung besonders deutlich.

Der zeitlichen Zerfall der Grundmode, Abbildung 5.16, lässt nach [80] eine Abschätzung der Diffusionskonstante zu. Aus dem diffusiven Zerfall der Konzentrationsfluktuationen gelangt man auf

$$c(\vec{q}, t) = \text{const.} \cdot e^{-\vec{q}^2 D \cdot t} \quad (5.8)$$

Für einen Bereich, in dem die Proportionalität von Fluoreszenzintensität und Konzentration gilt,  $I \propto c$ , kann man die Diffusionskonstante  $D$  aus der Steigung  $m$  berechnen. Der auftretende Wellenvektor  $\vec{q}$  ist dabei mit  $q = 2\pi/\lambda$  zu berechnen.

$$\ln(I) = \ln(I_0) - \vec{q}^2 D \cdot t \quad (5.9)$$

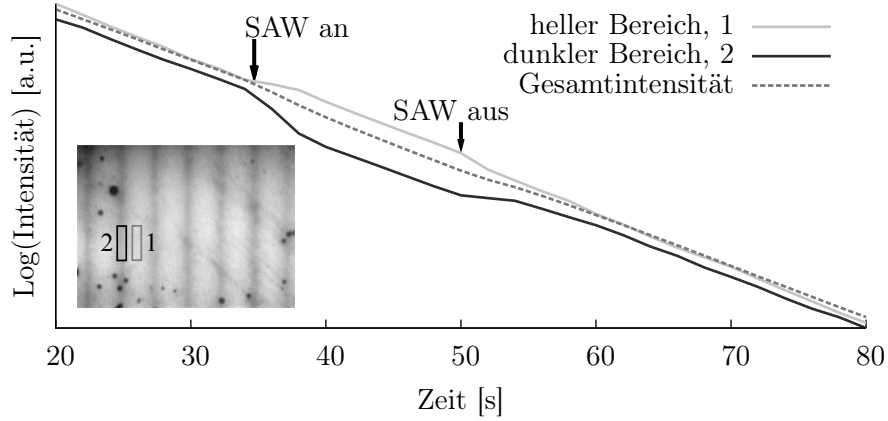


Abbildung 5.13: Zeitlicher, unkorrigierter Intensitätsverlauf während des oben gezeigten Experiments. Ausgewertet wurden Bereiche mit  $5 \times 255$  Pixel bzw. das Gesamtbild. Während der Stehwellerzeugung kommt es zu einer Akkumulation des Farbstoffs in den hellen, und zu einer Verarmung des Farbstoffs in den dunklen Bereichen.

$$D = -\frac{m}{\bar{q}^2} \quad (5.10)$$

Aus den Steigungen der Anpassungsgeraden ergeben sich bei einer angenommenen Periodizität von  $13,3 \mu\text{m}$  eine Diffusionskonstanten von etwa  $2 \mu\text{m}^2/\text{s}$ . Selbst wenn die Werte um das Bleichen des Farbstoffs mittels Gerade m5 korrigiert werden, bleibt die Diffusionskonstante in der gleichen Größenordnung, ihr Wert reduziert sich um etwa 0,05. Wie deutlich zu erkennen ist, gibt es zusätzlich zum eigentlichen Diffusionsprozess noch einen weiteren Zerfallsprozess. Die Gerade m4 deutet das signifikant unterschiedliche Verhalten an. Die Ursache dieser Zeitkonstanten ist bislang unklar, eine Vermutung, dass es sich um eine zweite Diffusionszeit handeln könnte, welche aus der substratseitigen Hälfte des Bilayers kommt wird plausibel, wenn man die Tatsache betrachtet, dass die Viskosität von *bulk*-Wasser und Wasser, welches im Bereich weniger Nanometer an die Oberfläche gebunden ist, sich um mindestens eine Größenordnung unterscheidet [39]. Für den Fall der hohen Membranviskosität gilt für die Diffusionskonstante  $D \propto 1/\eta$ , wobei  $\eta$  die Viskosität des umgebenden Mediums darstellt [39]. Eine Abnahme der Diffusionskonstanten in der Größenordnung der Viskositätszunahme wird dadurch erwartet und deckt sich mit den Messungen. Der Wert der (oberen) Diffusionskonstanten selbst, liegt im Bereich von  $1 \mu\text{m}^2/\text{s}$  bis  $5 \mu\text{m}^2/\text{s}$ , wie er für SLBs berichtet wird [90, 38].

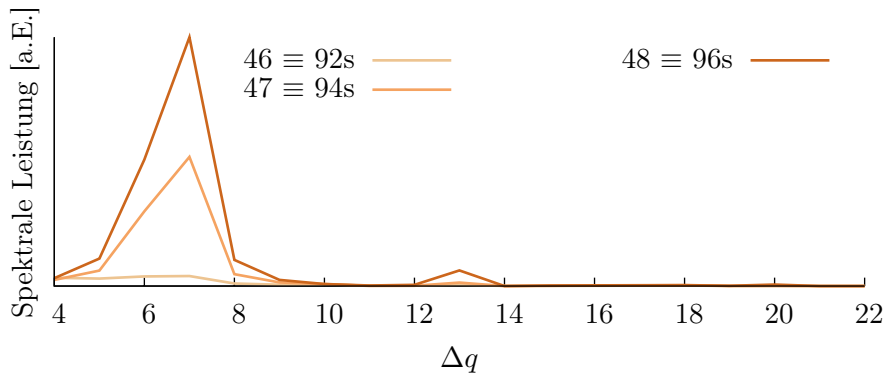


Abbildung 5.14: Entstehung des periodischen Musters im Frequenzraum. Transformatiert wurden die bereits gezeigten Bilder 46,47 und 48. Deutlich sichtbar wird die Grundfrequenz, mit ihrem Maximum bei  $7\Delta q$ , wobei die Asymmetrie der Kurven die 'geringe' Pixelanzahl der Kamera widerspiegelt. Die erwarteten Vielfachen der Grundfrequenz bestätigen, dass es sich bei den Intensitätskurven um keine reine Sinusform handelt, ihre Anteile sind vergleichsweise gering. Sie sind in der linearen Spektraldarstellung nur für Bilder mit ausgeprägtem Wellenmuster sichtbar.

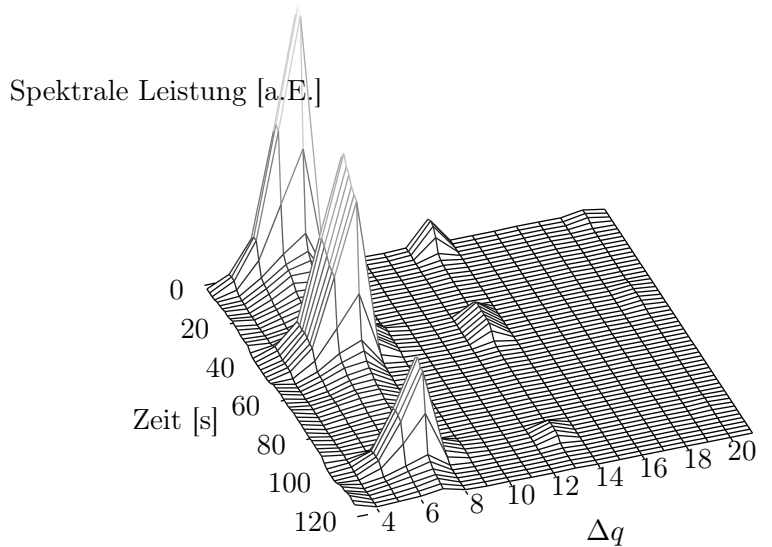


Abbildung 5.15: Spektrale Musterentstehung und Zerfall in zeitlicher Abfolge. Auch hier wird die Pixelanzahl der Kamera sichtbar, das Hauptmaximum bei  $7\Delta q$  zeigt die erwähnte Asymmetrie, die 1. Harmonische erscheint bei  $13\Delta q$ , die 2. Harmonische bei  $19\Delta q$ . Die Intensitätsabnahme beruht auf dem Bleichen des Farbstoffs.

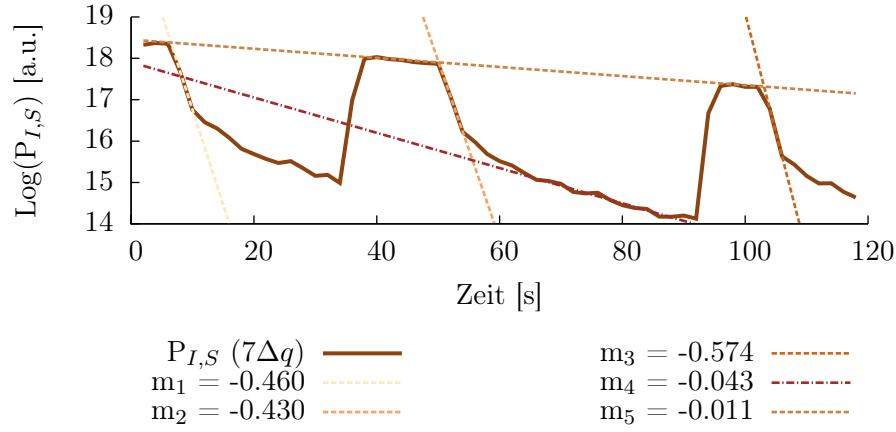


Abbildung 5.16: Zeitliche Entstehung und Zerfall der Grundmode ( $7 \Delta q$ ). Aus den Steigungen der Zerfälle können die Diffusionskonstanten abgeschätzt werden.

Tabelle 5.1: Aus dem Zerfall der Grundmode ermittelte Diffusionskonstanten, vgl. vorangegangene Abbildung. Die drei Geraden mit Steigungen  $m_{1,2,3}$  liefern Diffusionskonstanten um etwa  $2\mu\text{m}^2/\text{s}$ . Selbst wenn das Bleichen des Farbstoffs durch die Korrektur mit Steigung  $m_4$  berücksichtigt wird, ändert sich der Wert kaum.

Periode [ $\mu\text{m}$ ]	$q$ [ $1/\mu\text{m}$ ]		$m_{\text{korrr}}$ [1/s]	
13.3	0.472		0.011	
i	$m_i$	$D$ [ $\mu\text{m}^2/\text{s}$ ]	$m_{i,\text{korrr}}$ [1/s]	$D_{\text{korrr}}$ [ $\mu\text{m}^2/\text{s}$ ]
1	0.460	2.061	0.449	2.012
2	0.429	1.922	0.418	1.873
3	0.574	2.572	0.563	2.523
4	0.043	0.193	0.032	0.143



### 5.2.1 Musterbildung und lokale Temperatur

Bei der ersten Betrachtung der Membranismuster könnte man vielleicht dazu geneigt sein, lediglich die Auswirkungen von optischen, bzw. elektro-optischen Effekten, wie Linsen, Beugungs-, *Pockels*- oder *Kerr*-Effekt, zu vermuten, zumal die benutzten Materialien auch für eben diese Anwendungen Verwendung finden. Dem widersprechen jedoch alle Ergebnisse:

- In den AFM-Messungen konnte gezeigt werden, dass es sich bei den stehenden Wellen um Materialverzerrungen handelt, die aufgrund der als *mechanische Diode* [6] bekannten Wechselwirkung von AFM-Spitze und Substrat abgebildet werden können [45, 15]. Durch die Trägheit der AFM-Spitze, deren Resonanzfrequenz im 10-100 kHz-Bereich liegt, kann sie dem um 3-4 Größenordnungen hochfrequenten SAW nicht folgen. Die nicht-lineare Wechselwirkung bewirkt die Detektion einer *Einhüllenden*, deren Höhenwerte *nicht* den tatsächlichen Auslenkungen entsprechen. Übliche SAW-Amplituden liegen im Bereich um 0,1 nm [6].

Bei *Rayleigh*-wellensubstraten konnten im Experiment Stehwellenmuster durch die Aufzeichnung der vertikalen Kantileverauslenkung erzeugt werden. Bei Scherwellensubstraten hingegen, war allein aus dem Signalanteil der horizontalen (lateralen) Auslenkung ein Stehwellenbild zu generieren. Wäre ausschließlich eine Wechselwirkung über die elektrischen Felder maßgeblich, ist diese klare Unterscheidung nicht möglich.

- Für die Aufnahme von Stehwellenbildern war eine *fluide* Membran eine notwendige Bedingung. Versuche auf ungenügend gereinigten bzw. behandelten Oberflächen scheiterten, trotz vorhandenem SLB! Beispielsweise zeigten auch Experimente bei denen vor dem Vesikelspreiten verschiedene Reinigungsprozeduren vorgenommen wurden, unter dem Fluoreszenzmikroskop die Existenz der Bilayer-Membran durch homogenes Leuchten an. Jedoch konnte nur in den Experimenten eine Membrantenmischung erzeugt werden, in denen die laterale Beweglichkeit der Membran durch *continuous bleaching* erfolgreich überprüft werden konnte.
- Es konnten *keine* optischen Effekte beobachtet werden, die auch nur geringe Ähnlichkeit mit den beschriebenen Mustern zeigten, falls keine Membran, bzw. keine Fluoreszenzbeleuchtung benutzt wurde
- Optische Effekte besitzen Zeitkonstanten  $< 1 \mu s$ . Die beobachteten Effekte laufen hingegen im Sekundenbereich ab.

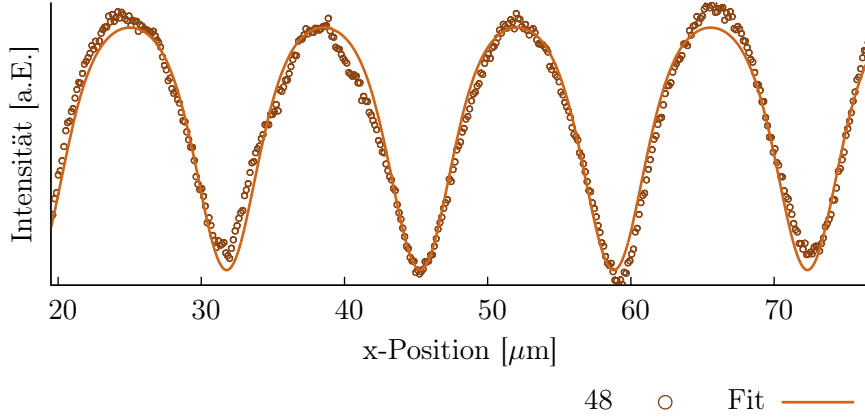


Abbildung 5.17: Aufsummierter Intensitätsverlauf am Beispiel Bildnummer 48 (siehe Abb. 5.12). Zum Vergleich wurde Fit mit  $\exp(\sin^2(x))$  eingezeichnet.

- Die aus den Messungen berechneten Diffusionskonstanten liegen in dem aus der Literatur bekannten Bereich.

Obwohl sich die AFM-Stehwellenbilder und die Membranmuster ähnlich sehen, fällt bei genauerem Vergleich der Abbildungen 5.9 und 5.4 bzw. der Abbildungen 5.11 und 5.1.2 der Unterschied im Intensitätsprofil des Musters auf. Während dieses im Fall der AFM-Messung einem fast sinusförmigen Verlauf folgt, kann die Fluoreszenzintensität der Membran durch

$$I(x) = I_0 - I_1 e^{-k^2 \beta \sin^2(x)} \quad (5.11)$$

angenähert werden, wie dies in Abbildung 5.18 dargestellt ist. Dieser Verlauf läßt sich durch eine SAW-induzierte Membranentmischung beschreiben: *Nissen et al.* [65] stellten in Membranbereichen geringer Dichte eine erhöhte TR-DHPE Konzentration fest und fanden dabei einen exponentiellen Zusammenhang zwischen Membrandichte und Fluoreszenzabnahme, gemäß  $I(x, t) \cong I_0 \exp(-x/\lambda) + const.$ , wobei  $x \propto \rho$  angenommen wurde. Im Experiment zeigen sich die Bereiche geringer Membrandichte bzw. erhöhter Fluoreszenz in den Knoten der stehenden Wellen, siehe Abbildung 5.9. Die Annahme des  $\sin^2(kx)$  spiegelt dabei die Verdopplung der SAW-Wellenlänge bei der Stehwellenerzeugung wider. Qualitativ kann Gleichung 5.11 dadurch motiviert werden, indem das lokale Dehnungsfeld der Stehwellen durch die 0,5-2 nm dicke Wasserschicht hindurch an die Membran ankoppeln. Die Materialverzerrungen können in einem einfachen Bild als partielle Ableitung der Auslenkung (vgl. Gleichungen 5.1) beschrieben werden

$$\frac{\partial y_{Ges}}{\partial x} = -4y_0 k \sin(\omega t) \cdot \sin(kx) \quad (5.12)$$

Dies führt zu einer räumlichen Modulation der Scher-Energiedichte, die sich analog zum Zugspannungsfall formulieren lässt

$$w = \frac{1}{2}G\alpha^2 \quad (5.13)$$

Die Größe  $G$  beschreibt den Schermodul,  $\alpha$  die Verzerrung, die im linearen Bereich durch den Ausdruck für  $\frac{\partial y_{Ges}}{\partial x}$  ersetzt werden kann

$$\langle w \rangle_t \propto k^2 \sin^2(kx) \quad (5.14)$$

Mit der üblichen Boltzmann-Verteilung

$$P(\Delta E) \propto \exp^{-\beta \Delta E} \quad (5.15)$$

kann die Aufenthaltswahrscheinlichkeit  $P$  der Farbstoffmoleküle in Abhängigkeit von einer *zu überwindenden* Energiedifferenz  $\Delta E$  modelliert werden. Der größte Energieübertrag wird somit im Bereich der Knoten der SSAW, d.h. im Bereich größter Dehnungen, angenommen. Dabei ist es für das resultierende Muster unerheblich, ob es sich um einen dissipativen Energietransport handelt, der mit einer Änderung der lokalen Temperatur verbunden ist, oder ob es sich um eine elastische Ankopplung handelt, die eine laterale Dichtemodulation der Membran bewirkt. Beide Mechanismen führen zum gleichen Muster, die Beobachtungen lassen deshalb diese Unterscheidung nicht zu. Aus der Betrachtung ergeben sich Orte erhöhter Beweglichkeit der Lipidmoleküle, sowie geringerer Lipiddichte. Für die Farbstoffmoleküle stellen diese Orte die energetisch *vorteilhafteren* Bereiche dar. Somit folgt für die Fluoreszenzintensität  $I_F$

$$I_F \propto 1 - P(\Delta E) \quad (5.16)$$

Mit  $\Delta E \propto w$  kann somit ein Gesamtausdruck der ortsabhängigen Fluoreszenzintensität gebildet werden

$$I_F(x) \propto 1 - \exp^{-\beta k^2 \sin^2(kx)} \quad (5.17)$$

Für den experimentellen Vergleich muss die Gleichung 5.17 etwas allgemeiner gefasst werden, man erhält den bekannten Ausdruck 5.11.

### 5.2.2 Simulation der Musterbildung auf Monolayern

In seinen Vergleichs-Simulationen zu Monolayern konnte *J. Griesbauer*<sup>17</sup> den prinzipiellen Vorgang der Membrantmischung nachbilden. Er kombinierte dazu die typische Monte-Carlo-Simulation (MC-Simulation) mit klassischer Newton-Mechanik. Die auf hexagonalen Gittern angeordneten Lipide erhielten zwei mögliche Zustände, gelförmig bzw. fluide und wurden durch Federn gegenseitig verbunden. Jedem Lipid wurde somit eine *feste* Position zugeordnet, um die eine Auslenkung erfolgen kann. Die entsprechenden Federkonstanten und Längen wurden aus den Kompressibilitätsdaten der Filmwaagenmessungen gewonnen. Mit dem, um die Federenergie  $E_{Sp}$  erweiterten Ausdruck der *Gibbschen* freien Energie<sup>18</sup>

$$\Delta G = n_f \cdot \Delta H \left( 1 - \frac{T}{T_m} \right) + n_{gf} \Delta \omega_{gf} + E_{Sp} \quad (5.18)$$

(Schmelzenthalpie  $\Delta H$ , Schmelztemperatur  $T_m$ ,  $n_{gf}$  = Anzahl nächster Nachbar-Wechselwirkung des Lipids in der fluiden (f) Phase mit Lipiden in der Gelphase (g), Kooperativität  $\Delta \omega_{gf}$ ) konnten MC-Simulationen durchgeführt werden. Ausgehend von einer Mischung aus 70% DMPC und 30% DSPC und einer scherförmigen Belastung der Membranoberfläche konnten in der Simulation Umverteilungsphänomene erzielt werden, die den beobachteten Entmischungsphänomenen in SLBs entsprechen.

### 5.2.3 Musterzerfall und q-Raum

Zur Abschätzung der Diffusionskonstanten  $D$  wurde der spektrale Zerfall der Grundmode,  $q_0$  bzw.  $\Delta q$ , des Musters betrachtet. Der genaue Blick in Abbildung 5.16 eröffnete dabei einen weiteren, deutlich langsameren Zerfallsprozess, dessen Ursache in einer deutlich verringerten Beweglichkeit der unteren Membranschicht liegen könnte, siehe vorigen Abschnitt. Nachdem in den vorangegangenen Kapiteln bereits die spezielle Form des Fluoreszenzintensitätsverlaufs betont wurde, kann die Zerfallsauswertung auch auf höhere Harmonische angewendet werden. In Abbildung 5.21 sind die spektralen Leistungen ersten drei Spektralanteile dargestellt. Die Ausbildung dieser Anteile während der Stimulation findet erwartungsgemäß etwas verzögert statt. Dies wird auch aus der zeitlichen Abfolge der Intensitätsprofile, 5.11, sichtbar. Anders als sich aus der Theorie vermuten lässt, vergleiche Gleichung 5.9, findet jedoch *kein* schnellerer Zerfall statt. Die Steigungen der Zerfallsgeraden sind nahezu identisch. Während des Zerfalls verschwinden die scharfen Intensitätsmaxima, die ebenfalls relativ

---

<sup>17</sup>in Veröffentlichung

<sup>18</sup> $\Delta G = excess\ free\ energy$

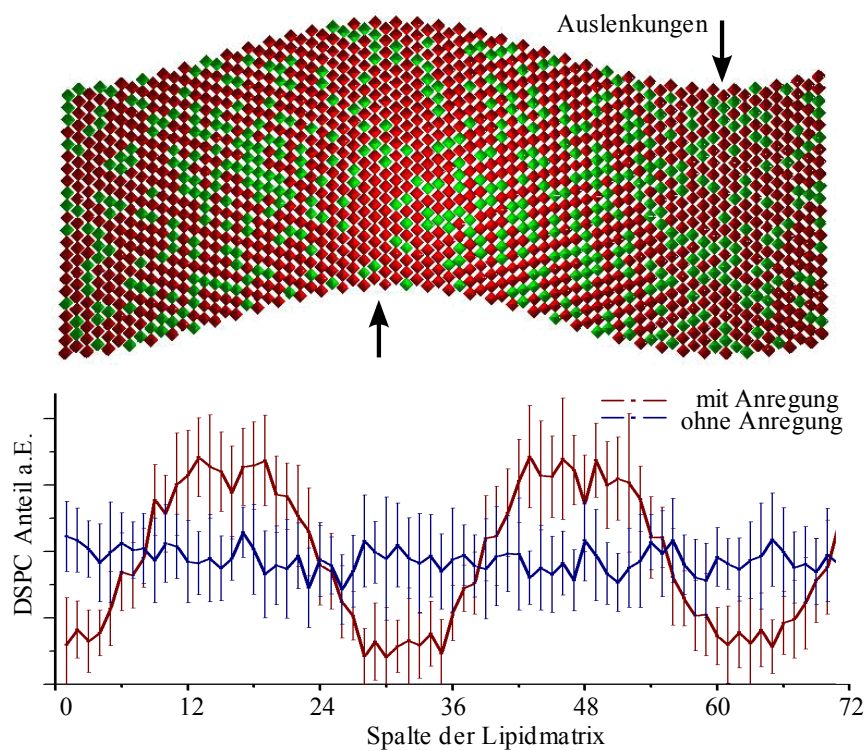


Abbildung 5.18: Simulationsergebnisse zur Scherbeanspruchung an gemischtem Lipid-Monolayer nach  $10^6$  MC-Schritten (J. Griesbauer). Oben: Scherbelastung verzerrt die Lipidmatrix und führt zur Entmischung (Wechsel der Zustände). Unten: DSPC-Anteil (grün) in jeweiliger Spalte der DMPC-Lipidmatrix (rot). DSPC repräsentiert dabei TR-DHPE der SAW-Experimente. Die erwartete Asymmetrie des Kurvenverlaufs wird selbst bei in der relativ kleinen Membran erzeugt.

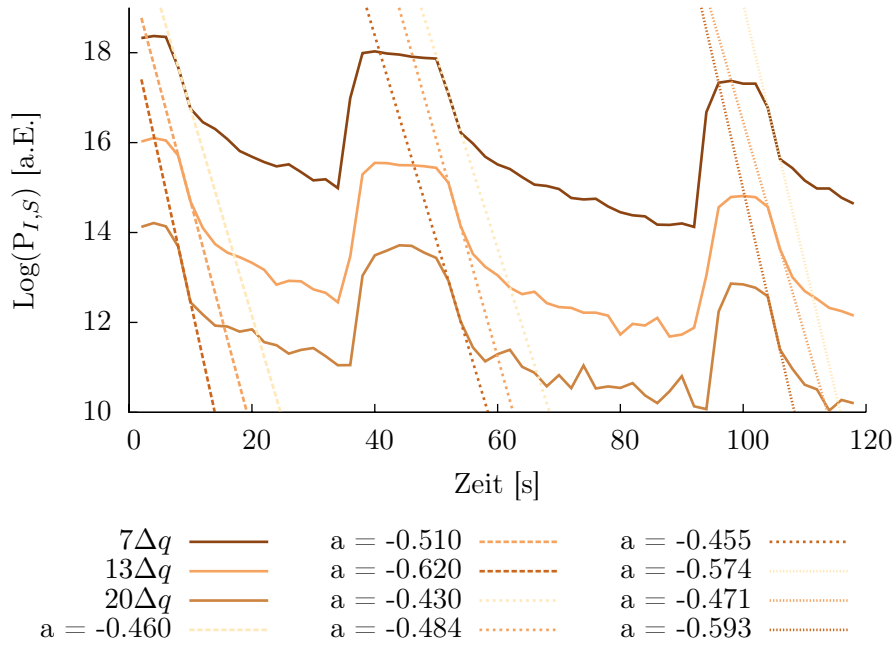


Abbildung 5.19: Musterentstehung und Zerfall im q-Raum. Der Vergleich der ersten drei Harmonischen liefert für den Zerfallsvorgang nahezu identische Steigungen.

scharfen Minima bleiben aber lange erhalten. Zum aktuellen Zeitpunkt sind die Details des Vorgangs nicht geklärt. Als Hypothesen kommen beispielhaft in Frage:

- Räumliche Modulation der Diffusion. Die Entstehung der Muster wird durch einen räumlich modulierten Energieübertrag erklärt, was zur Modulation der effektiven lokalen Temperatur führt. Diese Temperaturmodulation bleibt nach dem Ausschaltvorgang für einige Sekunden erhalten und bewirkt eine räumliche Modulation der Diffusion. In Simulationen kann eine solche Modulation zu einem Erhalt der Musterstruktur führen, jedoch muss eine vergleichsweise hohe Modulation angenommen werden.
- Eine attraktive elektrostatische Wechselwirkung zwischen den Farbstoffen, z.B. vermittelt durch die Triethyl-Ammonium-Ionen könnte zu einer Verzögerung im Zerfall führen.

#### 5.2.4 Mobile Entmischung

Orte fluider bzw. weniger fluider Membranbereiche werden durch die Lage der Knoten und Bäuche der Stehwellen festgelegt. Eine Veränderung deren Positio-

nen muss deshalb zu einer Verschiebung der entsprechenden Membranbereiche führen. Die Positionen sind bestimmt durch:

- Geometrie
- Phasenlage der relativen Anregungssignale
- Anregungsfrequenz

Eine Veränderung der Geometrie, d.h. der Periodizität bzw. der Länge der Laufstrecke führt zu einer Änderung der Positionen von Knoten und Bäuchen. Dies bedeutet jedoch eine Veränderung des Chips und ist deshalb wenig praktikabel.

Neben geometrischen Faktoren werden die Positionen der Knoten und Bäuche auch durch die Bedingungen am rechten und linken Rand der Laufstrecke bestimmt. Die Veränderung dieser Randbedingungen führt zu einer Positionsänderung. Eine Möglichkeit diese Bedingungen zu beeinflussen ergibt sich durch die Anpassung der Phasenlage der Anregungssignale. Üblicherweise wurde eine symmetrische Beschaltung zwischen Splitter und IDTs gewählt, d.h. beide Kabel sind gleich lang. Wird die Symmetrie verändert, ergeben sich daraus neue Positionen, das Muster muss wandern. Dies wird z.B. in Abbildung 5.20 deutlich. In den drei Aufnahmen wurde die Kabellänge um  $\pm 50$  cm verändert, die mittlere Aufnahme zeigt den symmetrischen Fall. Im Intensitätsprofil ist die Verschiebung der Position deutlich zu erkennen.

Eine Erhöhung der Anregungsfrequenz führt dazu, dass durch die Verkürzung der Wellenlänge mehr Knoten und Bäuche gebildet werden. Die Positionen werden sich ggf. verschieben. In Abbildung 5.20 ist eine solche Verschiebung bei einer Veränderung der Anregungsfrequenz dargestellt. Im Intensitätsprofil wird die Auswirkung besonders deutlich sichtbar. Die Anwendbarkeit ist auf einen engen Bereich um das Transmissionsmaximum beschränkt. Ausserhalb des Maximums fällt die Anregungseffizienz stark ab, die Musterbildung wird stark geschwächt. Um das Intensitätsprofil der drei Aufnahmen mit ähnlicher Amplitude darzustellen, mussten die Intensitätswerte bereits bei Anregung mit 152,1 MHz und 153,9 MHz mit dem Faktor 3 bzw. 2 korrigiert werden. Der Blick auf den Rand, d.h. auf den Übergang von Laufstrecke zu IDT, zeigt eine gleichzeitig vorliegende Veränderung der Randbedingung.

Durch die Experimente wird die Möglichkeit einer dynamischen, kontinuierlichen Membranentmischung aufgezeigt.

### 5.2.5 Dielektrophorese

Wendet man sich der Musterbildung in und auf Membranen zu, gelangt man beim Blick in die Literatur unweigerlich auf Arbeiten, die das Ausrichten und

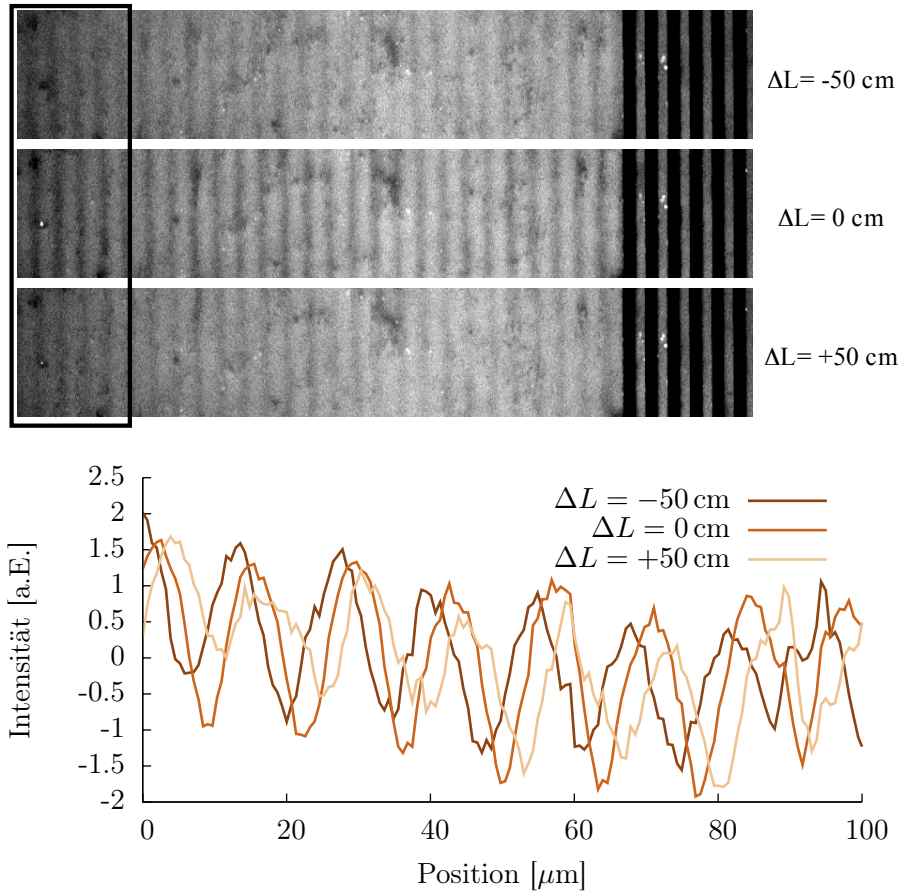


Abbildung 5.20: Unterschiedliche Kabellängen der Hochfrequenzleitungen führen zu einer Veränderung der Phasenlage bei der SAW-Stimulation. Dies erlaubt eine laterale Verschiebung des Musters, da die Knoten und Bäuche auf die 'neuen' Positionen wandern. Im Experiment wurde bei Anregung mit  $f=153$  MHz die Kabellänge um  $\pm 0,5$  m variiert. Aufgenommen an TR-markierter DOPC-Membran. Im Intensitätsprofil des markierten Bereichs sind die Verschiebungen deutlich zu erkennen, die unterschiedlichen Intensitäten wurden für die Darstellung kompensiert (Intensitätsanpassung: -50 cm: I:1.3, +50 cm: I:1.5)



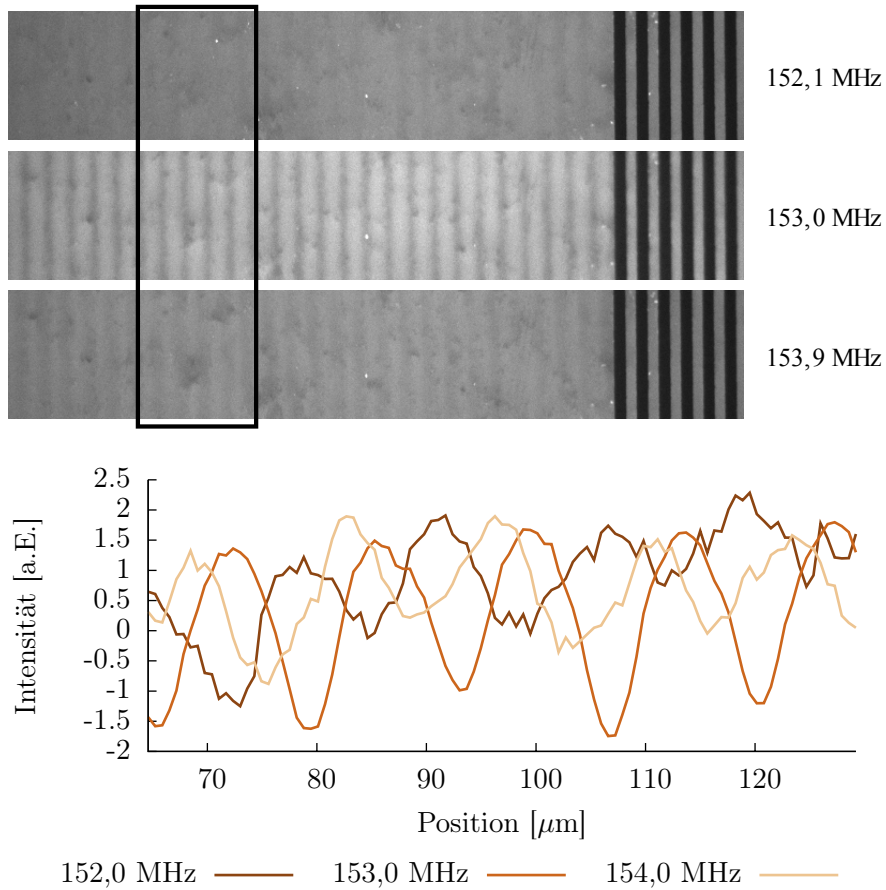


Abbildung 5.21: Die Veränderung der Anregungsfrequenz führt zur lateralen Verschiebung der Knoten und Bäuche und somit zur Wanderung der unterschiedlichen Membranbereiche. In den Bildern wurde die Frequenz von 152,1 MHz auf 153,9 MHz erhöht. Im Intensitätsverlauf des markierten Bereichs wird die Verschiebung eindrucksvoll sichtbar. (Intensitätsanpassung im Graphen: 152,1 MHz: I·3, 153,5 MHz: I·2).

die Ansammlung von membrangebundenen Makromolekülen mittels Dielektrophorese beschreiben [28, 26, 25]. Basierend auf der Kontinuums-theorie polarisierbarer Medien, läßt sich nach Jones [41] die im zeitlichen Mittel wirksame Kraft auf eine homogene Kugel gemäß

$$\langle \bar{F}_{DEP}(t) \rangle = 2\pi\epsilon'_1 R^3 \text{Re}[\underline{K}(\omega)] \nabla E_{rms}^2 \quad (5.19)$$

berechnen. Dabei bezeichnen  $\epsilon'_1$  den Realteil der Permittivität des Teilchens mit Durchmesser  $R$  und  $\underline{K}(\omega)$  die Clausius-Mossotti Funktion, welche die Information über Amplitude und Phase der wirksamen Dipolmomente trägt.

$$\underline{K}(\epsilon_2, \epsilon_1) = \frac{\epsilon_2 - \epsilon_1}{\epsilon_2 + 2\epsilon_1} \quad (5.20)$$

Aus (5.20) erkennt man, dass  $-0.5 \leq |\underline{K}| \leq 1$  gelten muss. Nimmt man an, die dielektrische Kraft wirke auf den verwendeten *Texas-Red*-Farbstoff, bestimmen dessen fünf anellierte Sechsringe den relevanten Durchmesser. Mit einer C-C Bindungslänge von 140 pm im Ring läßt sich der Durchmesser des Moleküls auf  $5 \cdot 240 = 1.2$  nm bzw. der Radius zu 0,6 nm schätzen. Im Experiment verwenden wird IDTs mit etwa 27  $\mu$ m Periodizität und erzeugen das Stehwellenmuster mit einer eingestellten Ausgangsleistung von etwa +20 dBm (=100 mW). An einem 50 $\Omega$  System entspricht dies einer Effektivspannung von 2,2 V. Geht man von einer Fehlanpassung des IDTs aus, bzw. nimmt man eine Leistungsreserve an, kann man näherungsweise von etwa 5 V<sub>eff</sub> ausgehen. Gerundet ergibt sich ein E-Feld von etwa  $1 \cdot 10^6$  V/m,  $E^2$  somit zu  $1 \cdot 10^{12}$  V<sup>2</sup>/m<sup>2</sup>. Im Fall stehender Wellen, falle dieses Feldquadrat auf  $\lambda/4$ , d.h. auf etwa 7  $\mu$ m, auf Null ab. Somit bestimmt sich der Gradient zu  $0.14 \cdot 10^{18}$  V<sup>2</sup>/m<sup>3</sup>. Setzt man die so bestimmten Werte in Gleichung 5.19 ein, und wählt man eine relative Permittivität von 50, berechnet sich die Kraft zu etwa  $9 \cdot 10^{-20}$  N:

$$\begin{aligned} \langle \bar{F}_{DEP}(t) \rangle &= 2\pi \cdot 8,9 \cdot 10^{-12} \frac{\text{As}}{\text{Vm}} \cdot \\ &50 \cdot (0.6 \cdot 10^{-9})^3 \text{m}^3 \cdot 1 \cdot \frac{1}{7 \cdot 10^{-6} \text{m}} \cdot (10^6)^2 \frac{\text{V}^2}{\text{m}^2} \\ &\approx 9 \cdot 10^{-20} \text{N} \end{aligned} \quad (5.21)$$

Unter der Annahme, dass für die Membranbestandteile das Äquipartitionsprinzip gilt und man  $E_{kin} = \frac{1}{2} k_B T$  als Größenordnung der mittleren kinetischen Energie ansetzen kann, resultiert unter der Voraussetzung, dass die mittlere Wegstrecke pro Stoß sicher unter 1 nm liegen wird, eine Abschätzung über eine dafür angemessene Kraft von etwa  $2 \cdot 10^{-12}$  N. Dies bedeutet, dass die Struktur-

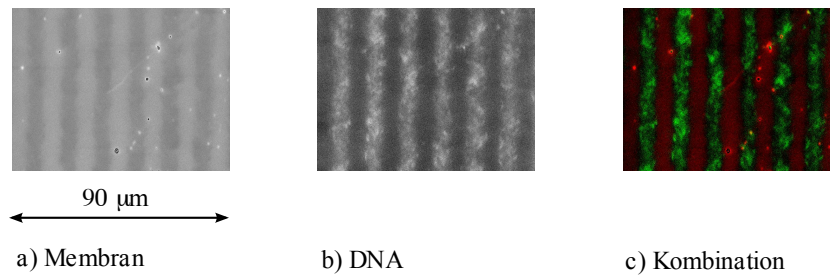


Abbildung 5.22: Mustererzeugung und Ausrichtung in fluoreszenzmarkierter Membran (TR) und membrangebundener DNA (YOYO). a) TR-Filter, b) YOYO-Filter, c) Die Falschfarbendarstellung der überlagerten Bilder a) und b) verdeutlicht die komplementären Aufenthaltsorte. Membran: Soy+10%CTAB, <1 mol%TR-DHPE, Anregung: 153 MHz, +16 dBm.

bildung der hier beschriebenen Experimente nicht auf Dielektrophorese beruht.

### 5.2.6 Ansammlung und Ausrichtung membrangebundener Makromoleküle

Die beschriebene Methode lässt sich auch auf das Ansammeln membrangebundener Makromoleküle, z.B.  $\lambda$ -DNA, membrangebundener Proteine und Vesikel erweitern. Siehe hierzu die Abbildungen 5.22 und 5.23. Durch Verwendung verschiedener Farbstoffe (TR-DHPE für die Membran und YOYO<sup>19</sup> für die  $\lambda$ -DNA) konnte durch Wechsel der Filter gezeigt werden, dass sich DNA und Membran-Farbstoff in komplementären Bereichen der Stehwellenerregung ansammeln. Während TR die Bereiche geringer Membrandichte einnimmt, findet sich die DNA dazwischen. Im Gegensatz zur TR-markierten Membran, bei der bereits nach wenigen Sekunden nach Einschalten der Erregung ein Stehwellenmuster zu erkennen ist, dauert es im Fall der DNA zirka 10-30 Minuten, bis sich ein Muster ausbildet. Für den Musterzerfall gilt dies gleichermaßen. Im Fall von  $\lambda$ -DNA kann außerdem eine partielle Streckung der Moleküle, parallel zur Wellenfront, beobachtet werden, siehe Abbildung 5.24

## 5.3 Oberflächenwellen in der mikrofluidischen Anwendung

Im folgenden wird der Einsatz akustischer Oberflächenwellen zur Strömungserzeugung in mikrofluidischen Kanälen demonstriert. Mit dem realisierten Aufbau gelang es, die Adhäsion von Mikropartikeln (MP) auf Zelloberflächen unter verschiedenen Flussbedingungen zu untersuchen und dabei die natürlichen Ge-

<sup>19</sup> YOYO, Invitrogen, UK

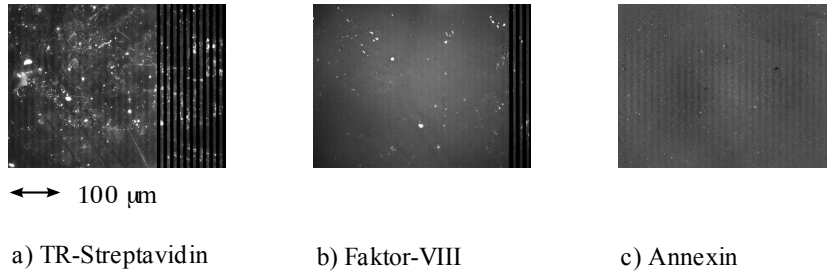


Abbildung 5.23: Mustererzeugung mit Makromolekülen. a) TR markiertes Streptavidin auf SOPC-Biotin Membran, b) Faktor-VIII auf POPS-Membran (IGG Antikörpermarkiert, Farbstoff Alexa488), c) FITC-markiertes Annexin auf POPC/POPS-Membran. Erste beiden Muster sind reversibel, Muster c) bleibt nach Ausschalten erhalten.

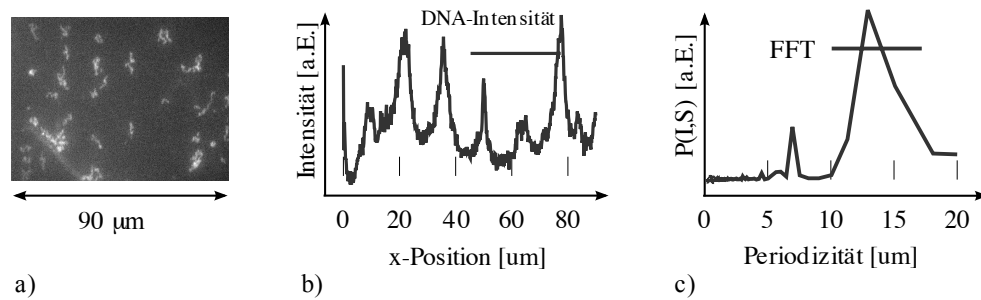


Abbildung 5.24: Mustererzeugung und Ausrichtung von  $\lambda$ -DNA. a) Fluoreszenzaufnahme ausgerichteter und partiell gestreckter DNA (YOYO-Farbstoff). b) Intensitätsverteilung des aufsummierten Fluoreszenzbilds zeigt deutlich die vorhandene Musterung. c) Auswertung mittels FFT bestätigt die Periodizität.

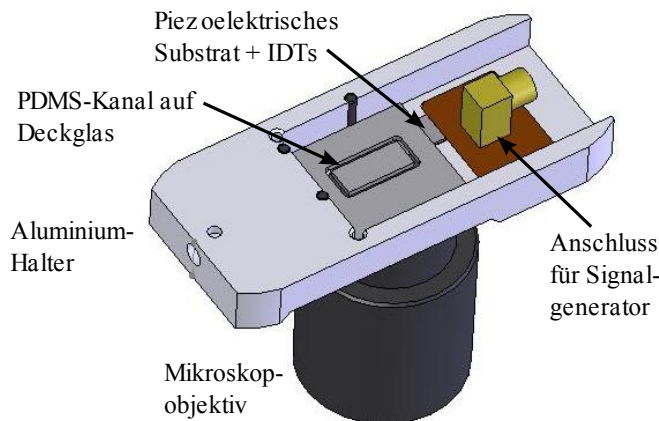


Abbildung 5.25: Mikrofluidik-Setup. Die in PDMS ausgeführten Kanäle befinden sich adhäsiv auf einem Deckglas, welches frei im Halter liegt.

gebenheiten im Körper, z.B. des Blutkreislaufs oder des Gastrointestinaltrakts zu imitieren<sup>20</sup>. Üblicherweise werden Experimente zur gezielten Medikamentenzufuhr (engl. *drug delivery*) durch *in vitro* Zellbindungsexperimente und unter stationären Bedingungen durchgeführt. In Vergleich mit einem dynamischen Umfeld, das beispielsweise die Gegebenheiten in Blutgefäßen realistischer widerspiegelt, konnten jedoch Unterschiede im Bindungsverhalten beobachtet werden [19]. Die systematischen Experimente dieser Arbeit erhärten dies, und zeigen signifikante Unterschiede auf.

Das SAW-Pumpenprinzip erweist sich dabei als besonders vorteilhaft, beispielsweise werden unnötige Kontaminationen vermieden, da sich die gesamte Fluidik direkt und kompakt auf dem Substrat befindet und keinerlei externen Schläuche oder Pumpen benötigt. Ein weiterer großer Vorteil besteht in der drastischen Verringerung der eingesetzten Probenmenge im Vergleich zu konventionellen Experimenten. Die gesamte benötigte Flüssigkeit reduziert sich auf wenige 100  $\mu\text{L}$ . Zusätzlich liefert die, in Abbildung 5.25 gezeigte Ausführung, die Möglichkeit die parallele Präparation vieler Kanäle und des darin befindlichen Zellrasen unabhängig durchzuführen. Nur für die eigentliche Beobachtung werden sie in den Halter eingelegt. Die Kanäle können beispielsweise aus PDMS<sup>21</sup>, einem biokompatiblen Polymer, in quasi beliebiger Geometrie gegossen, und durch die Auskleidung mit einem Zellrasen auch als Modell des Blutkreislaufs dienen [85]. Die vergleichsweise einfache Kanalgeometrie mit 44 mm x 4 mm x 3 mm (Länge, Breite, Höhe) des Experiments stellte die Möglichkeit einer ein-

<sup>20</sup>Die Zell-Experimente wurden von *Christian Fillafer et al.* am Department für Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie (Prof. M. Wirth) der Uni-Wien durchgeführt.

<sup>21</sup>Siehe auch vorangegangene Kapitel.

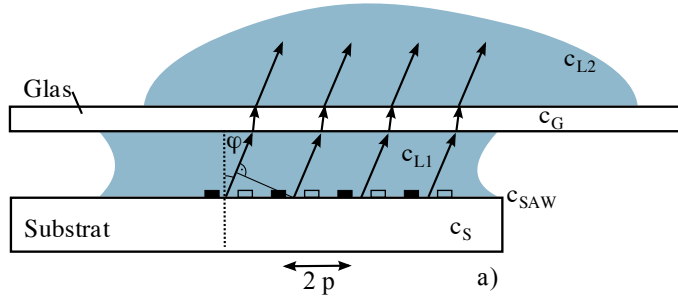


Abbildung 5.26: Prinzip der Strömungserzeugung im mikrofluidischen Kanal. Die SAW koppelt durch eine Flüssigkeitsschicht mit Schallgeschwindigkeit  $c_{L1}$  und ein Deckglas ( $c_G$ ) in die Flüssigkeit im Kanal ( $c_{L2}$ ) ein.

fachen Zellkultivierung und mikroskopischen Beobachtung in den Vordergrund.

Auf dem piezoelektrischen Substrat wird die SAW erzeugt und koppelt durch einen dünnen Flüssigkeitsfilm, sowie das Deckglas hindurch, an die Flüssigkeit im Kanal ein, siehe Abbildung 5.26. Dort erzeugt die mechanische Welle durch sogenanntes *acoustic streaming*, einer nichtlinearen Wechselwirkung zwischen oszillierender Oberfläche und Flüssigkeit, die Strömung<sup>22</sup>. Je nach Ausführung können Scherraten bis zu  $1000 \text{ s}^{-1}$  erzeugt werden<sup>23</sup>. Bei einfachen IDT-Geometrien erfolgt diese Anregung immer symmetrisch in beide Richtungen, in der Abbildung wurde die Ausbreitung der Wellenfronten nach links weggelassen. Zur effizienten Strömungsanregung ist deshalb eine Symmetriebrechung notwendig - die Einkoppelstelle wird in eine 'Ecke' des Kanals verschoben. Die sich in Rückrichtung ausbreitenden Wellenfronten werden an der Kanalwand reflektiert, und tragen partiell zur Strömungsbildung bei.

Im Bereich der Welleneinkopplung werden sich in makroskopischen Kanälen *immer* Wirbel ausbilden. Diese führen zu einer effizienten Durchmischung der Flüssigkeit [89, 24]. Nach einer gewissen Strecke, abhängig von den Dimensionen des Kanals, wird das Strömungsprofil laminar. Im Allgemeinen wird diese Ausbildung einer laminaren Strömung über die sogenannte *Reynoldszahl*  $Re$  charakterisiert. Hydromechanische Ähnlichkeitsbetrachtungen von Reibungskraft und Trägheitskraft geben dieser dimensionslosen Größe kritische Werte, die den Übergangsbereich zwischen laminar und turbulenter Strömung charakterisieren. In Rohrgeometrien (kreisförmig) werden für  $Re < 2320$  laminare Strömungen erwartet<sup>24</sup>, in der Mikrofluidik ist  $Re$  meist von der Größenordnung 1.

<sup>22</sup>Der an der Theorie zu *acoustic streaming* interessierte Leser sei beispielsweise auf die Arbeiten von *Borgnis* [8] und *Lighthill* [53] verwiesen.

<sup>23</sup>Diese ausserordentlich hohen Werte werden nur bei Anregung in Flüssigkeitstropfen und in eng begrenzten Bereichen erreicht.

<sup>24</sup>Der Übergangsbereich ist fließend, die Werte dienen der Orientierung.

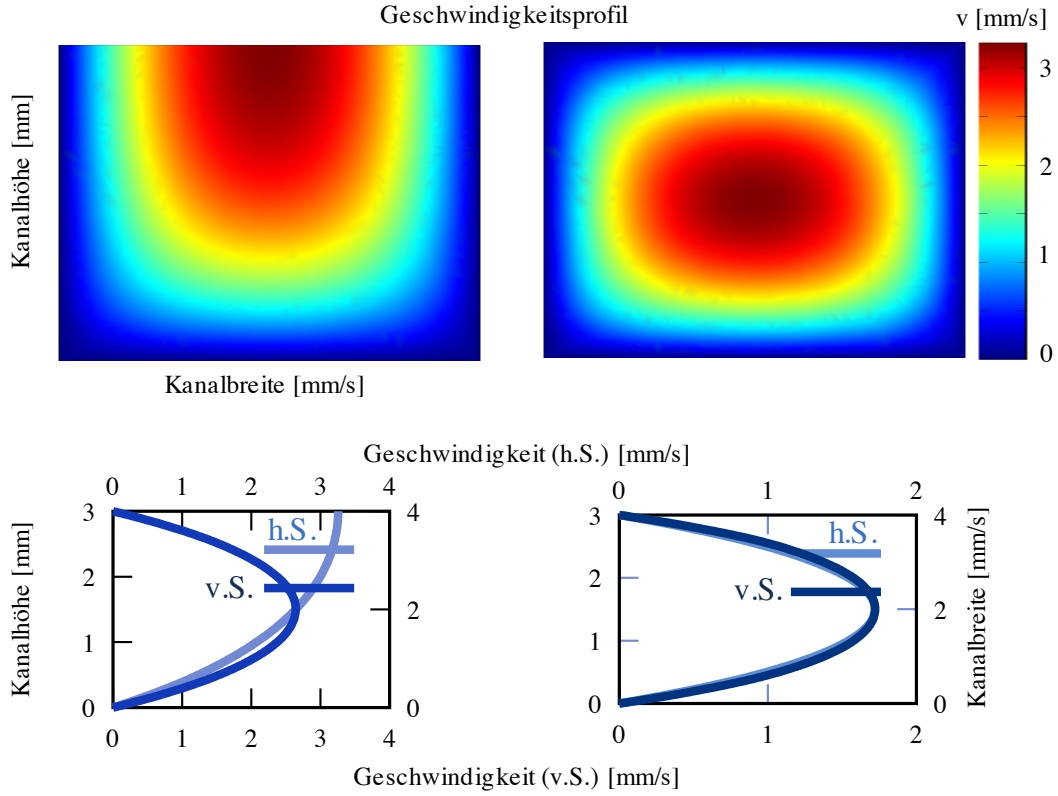


Abbildung 5.27: Simulation des Strömungsprofils im oben offenen (links) bzw. geschlossenen Rechteck-Kanal (rechts) mit Abmessungen 3x4 mm und Flussgeschwindigkeiten, wie sie im Kanal gemessen werden. Die Angaben 'h.S.' bzw. 'v.S.' kennzeichnen horizontale bzw. vertikale Schnitte durch die Mitte des jeweils oben dargestellten Profils. Für die Simulation wurde *Comsol Multiphysics* verwendet.

$$\text{Re} \equiv \frac{\rho L v}{\eta} = \frac{L v}{\nu} \quad (5.22)$$

Mit einer charakteristischen Länge  $L$ , Dichte des Mediums  $\rho$  und der Viskosität  $\eta$ , bzw. der kinematischen Viskosität  $\nu = \eta/\rho$  kommt es aufgrund der geringen Kanalquerschnitte ( $\approx \text{mm}^2$ ) und kleinen Strömungsgeschwindigkeiten ( $\approx \text{mm/s}$ ) bereits nach etwa 2 mm zu laminaren Strömungen.

In guter Näherung kann auch für den verwendeten, rechteckförmigen PDMS-Kanal ab diesem Abstand ein parabelförmiges Strömungsprofil mit laminarer Strömung angenommen werden, siehe Abbildung 5.27. Im geschlossenen Kanal wurden Maximalgeschwindigkeiten von etwa  $1700 \mu\text{m/s}$  experimentell ermittelt.

## Sedimentation & Zelladhäsion von Mikropartikeln

Im Experiment wurde die Adhäsion verschiedener Mikropartikeln an Zelloberflächen untersucht und mit dem Bindungsverhalten nicht-funktionalisierter Partikel verglichen. Verwendet wurden hierfür proteinbeschichtete PLGA Partikel<sup>25</sup>, welche mit WGA<sup>26</sup>, einem zytoadhäsiven Protein bzw. mit dem unspezifischen Protein BSA<sup>27</sup> beschichtet wurden. Der Fluidikkanal wurde mit einer Monolage *Caco-2*-Zellen belegt.

Um zu verlässlichen Aussagen bezüglich der Auswirkung der Flussbedingungen zu gelangen war es im Vorfeld notwendig, die Bindungsfähigkeit für den stationären Fall ( $v_{max}=0$ ) zu klären. Die dort ermittelten Werte bilden die Vergleichsreferenz. Für die verwendeten Mikropartikeln mit einem mittleren Durchmesser von  $3 \pm 1 \mu\text{m}$  und einer Dichte von  $\rho \approx 1,28 \text{ g/cm}^3$  wird eine sedimentationskontrollierte Deposition erwartet: Aus dem Gleichgewichtszustand von Gravitation und *Stokes*-Reibung berechnet sich die Sedimentationsgeschwindigkeit  $v_D$  für kugelförmige Partikel

$$v_D = \frac{2}{9} \frac{\Delta\rho g R^2}{\eta} \quad (5.23)$$

Für den ungünstigsten Vergleichsfall, d.h. der Beschränkung der Diffusion auf die vertikale ( $z$ ) Richtung, läßt sich bei der Annahme einer perfekt absorbierenden Zell-Oberfläche die mittlere Zeit bis zum Einfangen eines Partikels nach [7] durch

$$\tau_{mc} = \frac{1}{2D} (2 H z - z^2) \quad (5.24)$$

abschätzen, wobei  $D = k_B T / (6\pi\eta R)$  die Diffusionskonstante,  $H$  die Kanalhöhe und  $z$  die Starthöhe des Partikels bezeichnen. Mit der Dichtedifferenz von  $0,28 \text{ g/cm}^3$  zu Wasser würde eine vergleichbare Zeitskala erst bei der Verkleinerung des Durchmessers auf etwa  $100 \text{ nm}$  erreicht - allerdings bräuchte ein solcher Partikel im Mittel etwa  $600$  Stunden um von der Oberseite des Kanals den Boden zu erreichen.

Für die Partikel mit mittlerem Durchmesser berechnet sich die Sinkgeschwindigkeit<sup>28</sup> zu etwa  $1,4 \mu\text{m/s}$ . Mit einer Wartezeit von  $30$  Minuten führt dies zu einer Deposition der Größenordnung  $80\%$  der vormals homogen verteilten Partikel und bedeutet eine Partikelbelegung von  $\approx 3500 \text{ mm}^{-2}$ . Nach einem anschließenden Spülvorgang konnte jedoch lediglich eine Bedeckung mit  $94 \pm 64$  Partikeln

---

<sup>25</sup>PLGA, *Poly(D,L-lactide-co-glycolide)*

<sup>26</sup>WGA, *wheat germ agglutinin*

<sup>27</sup>BSA, *bovine serum albumin*

<sup>28</sup>Angenommen:  $\eta = 1003 \cdot 10^{-6} \text{ Pa s}$ .  $g = 9,81 \text{ m/s}$ .



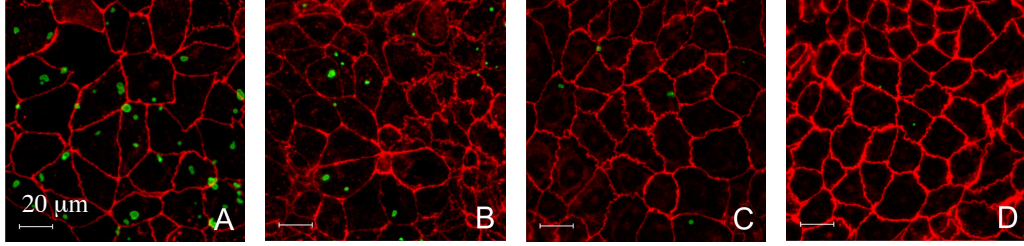


Abbildung 5.28: Zellgebundene WGA-MP (A,B) und BSA-MP (C,D). Während in (A) und (C) die Aufnahmen nach 30 Minuten nach Befüllen, Spülen und weiteren 30 Minuten Wartezeit, wurde in (B) und (D) während der Inkubation eine Strömung mit  $v_{max}=1700 \mu\text{m/s}$  angestellt. Mikropartikeln sind grün, Zellen rot eingefärbt dargestellt. (Abb. nach [20])

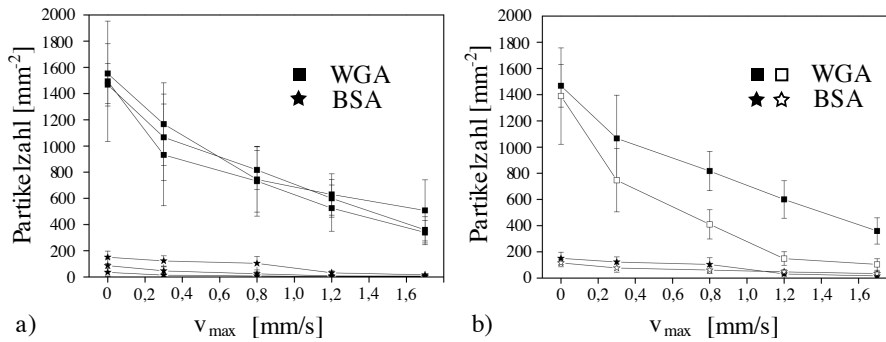


Abbildung 5.29: Mittlere Anzahl an WGA- bzw. BSA-funktionalisierten Mikropartikeln. a) Zellen wurden für 30 Minuten unter stationären Bedingungen mit Partikeln beladen, anschließend gespült und für 30 Minuten unter verschiedenen Strömungsbedingungen gehalten. (Verschiedene Punkte sind aus verschiedenen Experimenten.) b) Vergleich zwischen Beladung bei stationären Bedingungen (30 Min., gefüllte Symbole) und der Zugabe der Partikel direkt in den Fluss (offene Symbole). (Abb. nach [20])

pro  $\text{mm}^2$  ermittelt werden, d.h die unspezifisch modifizierten Partikel binden erwartungsgemäß fast nicht an die Zelloberflächen. Im Gegenteil dazu konnten im Fall der WGA Funktionalisierung bei gleicher Vorgehensweise  $1500 \pm 307$  Partikel pro  $\text{mm}^2$  ausgezählt werden, was auf spezifischen Bindungen des Lezithins mit der Zelloberfläche beruht. In den Folgeexperimenten wurde die Auswirkung der Strömung auf die Bindungsfähigkeit der Partikel untersucht, d.h. es wurde jeweils nach bzw. während der Inkubationsdauer eine bestimmte Strömungsgeschwindigkeit appliziert. Es stellte sich im Experiment heraus, dass sowohl die Zugabe während der Strömung als auch die spätere Applikation einer Strömung zu einer drastischen Reduktion der bindenden Partikel führt, siehe Abbildung 5.29. Im zweiten Fall beruhen die Differenzen in den ermittelten Partikelzahlen jedoch nicht auf einer entsprechenden Verringerung der zu Verfügung stehenden Partikel, wie in der nachfolgende Abschätzung gezeigt wird.

Als vorteilhaft erwies sich, dass die Strömungsanregung durch Oberflächen-

wellen eine erneute Durchmischung der Partikel herbeiführen.

### Erwartete Sedimentation im Fluss

Aufgrund der Strömungs- und Sedimentationsgeschwindigkeit der MP, kann man in erster Näherung eine Schwellwerthöhe  $\Delta z$  definieren, die ein Partikel maximal weit von der Substratoberfläche entfernt sein darf, damit es in der Zeit, in der es sich in einer Kanallänge ( $L = 44 \text{ mm}$ ) aufhält, sedimentiert. Man bekommt eine grobe Abschätzung des Schwellwerts über  $\tau_{zykl} = \frac{L}{v(z)} = \frac{z}{v_{sed}} = \tau_{sed}$ . Mit dem Absinken verlangsamt das Partikel seine Geschwindigkeit. Berücksichtigt man diesen Effekt, erhält man eine etwas bessere Abschätzung, wobei sich  $h_{max}$  durch die längere Laufzeit vergrößert. Das Geschwindigkeitsprofil kann hierfür zum Vektor zusammengefasst werden.

$$\vec{v} = \begin{pmatrix} a \cdot z_p^2 + b \\ 0 \\ -v_{sed} \end{pmatrix} \quad (5.25)$$

Durch Integration erhält man  $\vec{x}(t) = \int \vec{v}(t) dt$

$$\vec{x} = \begin{pmatrix} a \cdot \int z_p^2(t) dt + b \cdot t \\ 0 \\ z_0 - v_{sed} \cdot t \end{pmatrix} \quad (5.26)$$

Der Ausdruck für  $z_p(t)$  in der ersten Zeile von  $\vec{x}(t)$  kann durch die dritte Zeile ersetzt und berechnet werden. Es folgt

$$x(\tau) = \frac{a}{3} v_{sed}^2 \tau^3 - a \cdot z_0 \cdot \tau^2 + (a \cdot z_0^2 + b) \cdot \tau \quad (5.27)$$

Die relevante Zeit  $\tau$  ist nun dadurch vorgegeben, dass hier gelten muss

$$\begin{aligned} x(\tau) &= L \\ z(\tau) &= -\frac{H}{2} \end{aligned} \quad (5.28)$$

Setzt man weiter  $z_0 = \Delta z - \frac{H}{2}$  kann die gesuchte Größe  $\Delta z$  als Lösung des Polynoms 3. Ordnung bestimmt werden. In Abbildung 5.30 ist die Lösung für verschiedene Partikeldurchmesser in Abhängigkeit der maximalen Flussgeschwindigkeiten dargestellt. Für  $3 \mu\text{m}$  Partikeldurchmesser erhält man so bei  $v_{max} \approx 1700 \mu\text{m/s}$  eine relevante Höhe von  $\Delta z \approx 224 \mu\text{m}$ . Für die Berechnung der sedimentierenden Partikel werden nur diejenigen betrachtet, die im bereits bestimmten Intervall zwischen Substrat und  $\Delta z$  strömen (siehe oben). Dabei

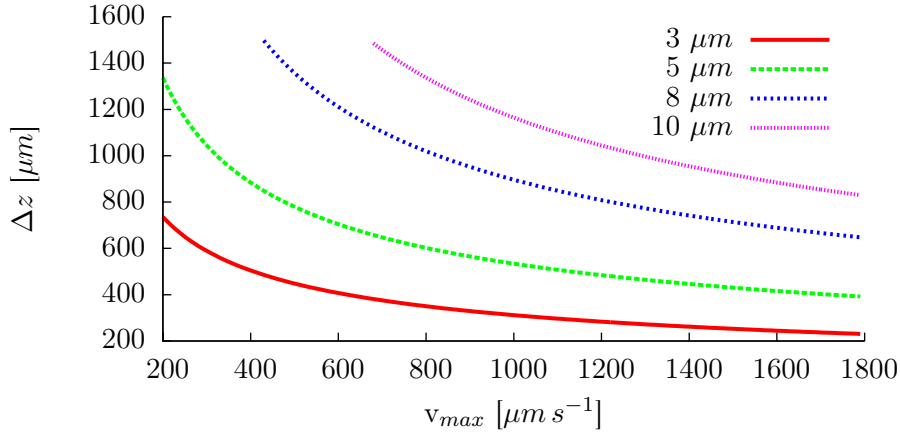


Abbildung 5.30: Schwellwerthöhe für unterschiedliche Partikeldurchmesser in Abhängigkeit der Flussgeschwindigkeit.

wird zuerst die Gesamtzahl aller sedimentierenden Partikel im Kanal bestimmt und anschließend der Anteil der Partikel, die sich im ausgewerteten Flächenanteil befinden ermittelt. Die inhomogene Strömungsverteilung in lateraler Kanalausdehnung, die auf Grund der geringeren Strömungsgeschwindigkeit zu einer erhöhten Sedimentation führt, wird vernachlässigt. Der dabei gemachte Fehler wird im Vergleich mit dem Fehler der Auszählmethode als klein erachtet. In der gesamten Messzeit  $\tau$  werden  $N$  Partikel den relevanten Bereich durchströmen und sedimentieren können. Die Anzahl an Partikeln berechnet sich aus der Partikeldichte  $\rho$ , der Strömungsgeschwindigkeit  $v(z, t)$  ( $y$  wird als homogen erachtet) und der Meßzeit  $\tau$  mit

$$N = \int_{\Delta z} \int_B \int_0^\tau \rho(t) \cdot v(z) dy dz dt \quad (5.29)$$

Die Geschwindigkeit  $v(z)$  wird durch den bereit erwähnten Parabelansatz in Gleichung 5.25 genähert und kann in  $y$  und  $z$  sofort integriert werden. Alle zeitunabhängigen Größen werden zu  $k$  zusammengefasst. Es bleibt somit die Gleichung

$$\frac{dN}{dt} = k \cdot \rho(t) \quad (5.30)$$

zu lösen. Mit  $\rho(t) = \frac{1}{V}(N_0 - N(t))$  ergibt sich eine lineare inhomogene Differentialgleichung erster Ordnung, deren Lösung sich aus der partikulären Lösung  $N(t) = N_0$  und der homogenen Lösung zusammensetzt.

$$N(t) = N_0 \cdot (1 - e^{-\frac{k}{V} \cdot t}) \quad (5.31)$$

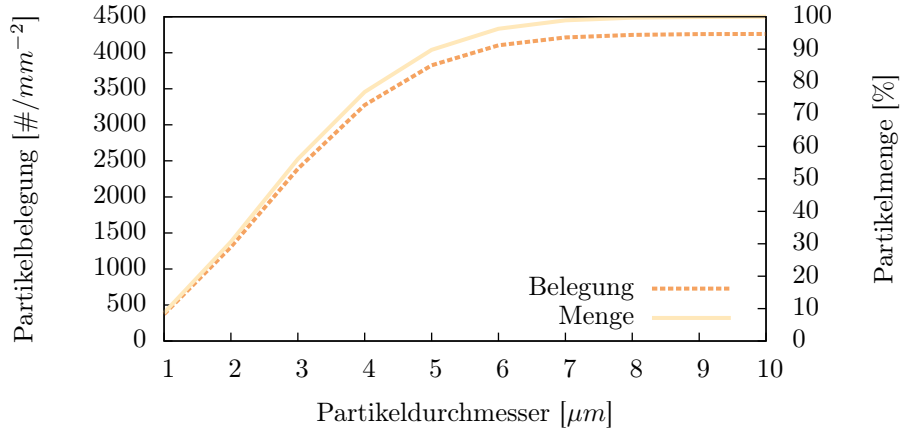


Abbildung 5.31: Simulation der Belegungsichte der in 30 Minuten sedimentierten Partikel. Abhängig von deren Größe ergeben sich stark unterschiedliche Werte. Als Dichtedifferenz wurde  $\Delta\rho = 280 \text{ kg/m}^3$  angesetzt.

Die Anzahl  $N_r$  an gezählten Partikeln kann mit

$$\frac{N_r}{N} = \frac{A}{A_{ges}} \quad (5.32)$$

abgeschätzt werden, bzw. es kann durch einfaches Teilen von sedimentierter Gesamt-Partikelanzahl  $N$  durch die Gesamtfläche die Belegungsichte abgeschätzt werden. Im Experiment wird eine Partikeldichte von etwa  $\rho = 7.5 \cdot 10^5$  pro  $500 \mu\text{L}$  verwendet. Der Kanal mit den Abmessungen  $L=44 \text{ mm}$ ,  $B=4 \text{ mm}$ ,  $H=3 \text{ mm}$  wird dabei mit  $500 \mu\text{L}$  der Partikellösung fast vollständig gefüllt.

Im Strömungsversuch mit 30 Minuten Messzeit bestimmt sich der Anteil an sedimentierten Partikeln auf etwa 56%, somit sollten etwa  $2400 \text{ mm}^{-2}$  sedimentiert sein.

Bei einfacher Sedimentation mit der Sedimentationsgeschwindigkeit von  $1,4 \mu\text{m/s}$  erhält man in 30 Minuten eine Strecke von etwa  $2,5 \text{ mm}$ , dies ist ca. 83% der Höhe bzw. der Gesamtmenge also etwa  $62,3 \cdot 10^4$  Partikel, somit eine Partikeldichte von etwa  $3500 \text{ mm}^{-2}$ . Vergleicht man dies mit dem Messergebnis von etwa  $1500 \text{ WGA-MP mm}^{-2}$  fällt ein Faktor von ca. 0.43 auf. Unter der Annahme, dass der Anteil ungebundener Partikel durch den Spülvorgang entfernt wird, könnten im Strömungsversuch somit etwa  $2400 \cdot 0.43 \approx 1000$  Partikel pro  $\text{mm}^2$  zu finden sein. Interessanterweise ergibt sich mit dem parabelförmigen Strömungsprofil eine Belegungsichte, die unabhängig von der Maximalgeschwindigkeit im Kanal ist. Der Zuwachs an Partikeln pro Zeitintervall, der bei einer vergrößerten  $v_{max}$  zu verzeichnen ist, wird durch die Verringerung der relevanten Höhe  $\Delta z$  kompensiert. Bemerkt werden sollte jedoch auch eine relativ starke Abhängigkeit

der Sedimentation vom Durchmesser der Partikel. Vergleicht man die Ergebnisse für 2, 3 und 4  $\mu\text{m}$  große Partikel, siehe Abbildung 5.31, erhält man zwischen 1300 und 3300 Partikel pro  $\text{mm}^{-2}$ .

### **Zusammenfassende Betrachtung**

Die Zugabe der MP während der Strömung reduziert die bindungsrelevante Partikelmenge, jedoch nicht in dem Ausmaß, wie dies in den Experimenten beobachtet wurde. Ab einer Mindestgeschwindigkeit, die durch die Partikeleigenschaften vorgegeben wird, ist die Menge der bindungsrelevanten Partikel durch das parabelförmige Strömungsprofil und die jeweilige erneute Durchmischung nach einem Umlauf, als konstant zu betrachten. Die Strömung im Kanal führt zu einer Reduktion der gebundenen MP. Die Verringerung ist abhängig von der Fließgeschwindigkeit, bzw der Scherrate im Kanal. Die Reduktion der MP kann einerseits durch Ablösung wenig gebundener Partikel, siehe Abbildung 5.29 a), und eine verringerte *Bindungsfähigkeit* im Fluss, siehe Abbildung 5.29 b), erklärt werden.

## Kapitel 6

# Ausblick

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden die vielfältigen Einsatzmöglichkeiten akustischer Oberflächenwellen zur Lösung biophysikalischer Fragestellungen untersucht. Die Anwendungen erstreckten sich dabei vom Bereich der Biosensorik, über die Aktorik an Lipidmembranen, bis hin zur Strömungserzeugung in mikrofluidischen Kanälen. In jedem dieser Bereiche leisten akustische Oberflächenwellen ihren Beitrag zur Lösung aktueller Fragestellungen.

Mit Scherwellensubstraten und einer Auswerteelektronik, die eine empfindliche Messung der Phasenbeziehung von Referenz- und SAW-Signal ermöglicht, kann die Entstehung einer Lipidmembran zeitaufgelöst untersucht werden. Bildet sich ein Lipid-Bilayer aus kleinen unilamellaren Vesikeln aus, führt die Bindung an die Substratoberfläche zu einer signifikanten Veränderung des relativen Phasenwinkels, bzw. der Laufzeit der akustischen Welle. Die üblichen Zeitangaben für solche Membranbildungsprozesse variieren gewöhnlich von einigen Minuten bis zu mehreren Stunden. Im Experiment konnte gezeigt werden, dass diese breite Zeitspanne durchaus ihre Berechtigung findet: Die Membranbildung aus frisch erzeugten Soy-SUVs und unter der Zugabe eines Tensids (CTAB) ist bereits nach etwa 20 Minuten abgeschlossen. Wird auf das Tensid verzichtet, verlängern sich die Zeiten bis hin zu mehreren Stunden. Vergleiche mit Vesikeln aus DMPC, DOPC, D15PC und mit Vesikeln aus DPPC zeigten, dass die Vesikel aus Soy-Extrakt die zuverlässigsten, fluiden Membranen hervorbrachten. Die natürliche Heterogenität der Soy-Zusammensetzung ermöglicht eine optimale Adaption an die nanskopische Topologie der Substrate. Experimente zum Vesikelspreiten aus frisch vorbereiteten DMPC-SUVs zeigten ähnliche Zeitverläufe, wenngleich das Tensid eine entscheidende Rolle spielt: Wird die Tensidmenge verringert führt dies zu einer Verlängerung der Anlagerungszeiten hin zu mehreren Stunden, die 'Haltbarkeit' der Vesikel scheint verkürzt. Ähnlich kurze Anlagerungszeiten, wie durch die CTAB-Beimischung beobachtet wer-

den, können durch die Erhöhung der Substrattemperatur herbeigeführt werden. Entsprechende Experimente sind Thema aktueller Untersuchungen. Diese sollen auch ein besseres Verständnis für die Rolle des Tensids im Entstehungsprozess beitragen. Die Anlagerungscharakteristiken, vgl. z.B. Abbildung 4.3, deuten auf mehrere Stufen hin: a) Unverzögliche Phasenänderung nach der Zugabe der Lipidlösung. Hierin werden zwei Effekte vermutet. Einerseits kann die Änderung der dielektrischen Eigenschaften der Flüssigkeit aufgrund der akustoelektrischen Wechselwirkung zu einer Phasenverschiebung führen, andererseits kann es zu diesem Zeitpunkt bereits zum Aufplatzen der Vesikel und zur Membranbildung kommen. Für den zweiten Aspekt spricht die Tatsache, dass das Alter der Vesikellösung zwar deren Eigenschaften beeinflussen wird, die chemische Zusammensetzung der Flüssigkeit aber gleichbleibt. Dennoch werden unterschiedliche Anlagerungskurven beobachtet. b) Den kontinuierlichen Bereich der Membranentstehung, der mit einem Aufplatzen und Ordnen der Membran in Verbindung gebracht wird. Der Aufbau erlaubte ebenfalls den Nachweis des Phasenübergangs in DMPC-SLBs bei etwa 24°C. Im Vergleich zu Wärmekapazitätsmessungen mit dem Mikrokalorimeter fällt besonders die relativ große Hysterese von etwa 0,5°C auf. Ob es sich dabei um eine Ausprägung der Membran-Festkörper-Wechselwirkung handelt, oder durch einen kooperativen Umwandlungsmechanismus und der Temperaturrampe zurückzuführen ist, konnte bislang noch nicht geklärt werden. Die vorliegende Begrenzung auf den Bereich um Raumtemperatur, und die damit verbundene Beschränkung auf DMPC-Membranen, ist lediglich technischer Natur und könnte durch die Ankopplung des Substrats und der Küvette an ein geeignetes Wärmebad umgangen werden. Über die bisher genannten Aspekte hinaus, bietet sich die Sensorik mit Oberflächenwellen auch zur Untersuchung von Membran-Partikel-Wechselwirkungen an. Die kontroversen Potenziale und Gefahren dieser Wechselwirkung sind seit langem ein Thema aktueller Forschung, siehe z.B. [17, 21]. Mikro- und Nanopartikel stellen Wirkstoffcontainer und Gefahrenquelle gleichermaßen dar. Die Möglichkeit die SAW-Sensorik auch auf diesen Themenbereich anzuwenden, konnte exemplarisch durch die Veränderung des Phasensignals bei Zugabe von funktionalisierten Nanopartikel demonstriert werden. Der Aufbau gestattet eine systematische Untersuchung mit dem zusätzlichen Vorteil, nicht nur die Membran-Partikel-Wechselwirkung, sondern bereits die Entstehung der Membran selbst kontrollieren zu können.

Neben den sensorischen Aufgaben, kann mit dem gleichen Chip auch eine aktive Beeinflussung der Membran erfolgen. Werden beide IDTs gleichzeitig gespeist, kommt es zur Ausbildung akustischer Stehwellen auf dem Substrat. In

dieser Arbeit konnte erstmals gezeigt werden, dass diese Stehwellen die Membrandichte lokal verändern [37]. Dies führt zu einer dynamischen Entmischung der Membran, sowie zu einer Ausrichtung und Ansammlung membrangebundener Makromoleküle. Die Auswirkungen dieser, z.T. reversiblen Vorgänge konnten mit Hilfe fluoreszierender Farbstoffe als Membranmuster sichtbar gemacht werden. In Experimenten an Membranen aus verschiedensten Lipiden konnte gezeigt werden, dass dieser Effekt nicht auf einem besonderen Merkmal eines Lipids beruht, sondern vielmehr universelle Anwendbarkeit besitzt. In der Auswertung der Soy-Experimente konnte aus dem spektralen Zerfall der Fluoreszenzmuster die laterale Diffusionskonstante der Lipide bestimmt werden. Der ermittelte Wert von etwa  $2 \mu\text{m}^2/\text{s}$  liegt in dem für Membranen erwarteten Größenbereich. Die Zerfallscharakteristik läßt jedoch die Vermutung eines zweiten, langsameren Diffusionsvorgangs in der substratseitigen Monolage vermuten. Dessen Diffusionskonstante wurde auf etwa  $0,2 \mu\text{m}^2/\text{s}$  bestimmt und ist begründbar mit der erhöhten Viskosität der etwa 0,2-2 nm dünnen Wasserschicht zwischen Substrat und Membran. Die aufgezeigte Methode könnte den Weg für schaltbare Membran-Schnittstellen ebnen und dynamische Bio-Arrays ermöglichen. Außerdem kann das System zur Untersuchung heterogener Membranen und deren Dynamik beitragen, welche entscheidenden Einfluss auf biologische und biochemische Abläufe hat. Beispielsweise könnte die Beweglichkeit von Enzym- und Rezeptormolekülen verändert werden. Eine Eigenschaft, der eine Schlüsselrolle im Vorgang der Zelladhäsion zuerkannt wird [88].

Die Wechselwirkung zwischen SAWs und ihrer Umgebung kann auch zur Manipulation kleinster Flüssigkeitstropfen und zur Strömungserzeugung in mikrofluidischen Kanälen verwendet werden [34, 100, 101]. Im Rahmen dieser Arbeit gelang es ein mikrofluidisches System aufzubauen und das Adhäsionsverhalten funktionalisierter Mikropartikel unter verschiedenen Flussbedingungen zu untersuchen. Der Kanal wurde für die Experimente mit einem Zellrasen ausgekleidet und imitierte dabei einen Bereich des Gastrointestinaltrakts. Die Auszählung der fluoreszenzmarkierten Partikel zeigte eine signifikante Reduktion zelladhärierter MP unter Flussbedingungen [20] und läßt berechnete Zweifel an den Ergebnissen üblicher, statischer *in vitro* Untersuchungen aufkommen. Darüber hinaus wird das entwickelte System im Rahmen eines Kooperationsprojekts zur Untersuchung des inflammatorischen Verhaltens von  $\text{SiO}_2$ -Nanopartikeln und Endothelzellen eingesetzt [9]. Insgesamt verdeutlichen die Ergebnisse die Fülle an Möglichkeiten, die akustische Oberflächenwellen im Bereich der Biophysik bieten. Sie stellen ein fast universell einsetzbares Werkzeug zur Beantwortung verschiedenster, spannender Fragestellungen dar.



## Anhang A

# Herstellung kleiner unilamellarer Vesikel (SUVs)

SUV-Proben immer möglichst zeitnah vorbereiten. Herstellung benötigt mindestens 5 Stunden. Es bietet sich an, die Vorbereitung am Vortag durchzuführen.

### A.1 Vorbereitung der Lösungen

- Vorratslösung aus dem Kühlschrank nehmen und auf Raumtemperatur bringen
- Hamiltonspritzen reinigen. Frisch abgefülltes Chloroform verwenden und Spritzen mindestens 10x mit Chloroform durchspülen.
- Fläschchen mit Chloroform reinigen, d.h. 3x spülen und entleeren. Anschließend etwa 200  $\mu$ l Chloroform einfüllen.
- Vorratslösung gemäß Rezeptur einfüllen.
- Spritzen bei Bedarf, bzw. nach Abschluss der Arbeiten reinigen.
- Chloroformlösung im Fläschchen mit Stickstoff trocknen.
- Fläschchen für mindestens 3 Stunden in Exsikkator stellen.

### A.2 Herstellung MUVs

Proben bis zur Verwendung im Exsikkator belassen.

- Fläschchen entnehmen und mit Reinstwasser gemäß Rezeptur auffüllen
- Proben durchschütteln

- Fläschchen mit Lipiden im Wasserbad auf Heizplatte stellen. 50°C, mind. 2 Stunden, alle 30 Minuten schütteln

### A.3 SUV-Herstellung

Proben bis zur Verwendung im KÜHLSCHRANK aufbewahren!

- MUVs mit Rüsselbeschaller zerkleinern: 10 Minuten, T=50%Cycle, P=65%. Rüsselbeschaller vorher und nachher reinigen: abspülen und abwischen mit Ethanol und Wasser! SUV-Lösung sollte nach Ultraschallbehandlung vollständig optisch klar sein
- Abzentrifugieren der metallischen Rückstände der Sonitrode. Proben in *tubes* umfüllen, Zentrifuge gleichmäßig beladen. 10 Minuten bei  $14500 \text{ Min}^{-1}$
- Glasfläschchen zwischenzeitlich mit Reinstwasser spülen, 20 s im Ultraschallbecken reinigen, nochmals spülen und mit Stickstoff trocknen
- Zentrifugierte Proben zeigen meist metallischen Rückstand am Boden. Probe vorsichtig mit Pipette abnehmen, Rest entsorgen

## Anhang B

# Elektronenstrahlolithographie

zur Herstellung optischer Masken.

- Als Lack wird Polymethylmethacrylat (PMMA 150k bzw. PMMA 500k) verwendet. Dieses wird zu 4 Gew.-% bzw. 2 Gew.-% in Isopropanol gelöst
- Lackschleuder: 30 s bei 5000 U/min
- Prebake: 1 Stunde bei 160° im Ofen
- Entwickler: Isobutylmethylketon (MIBK; Merck KGaA, Darmstadt). MIBK wird im Verhältnis 1:3 mit Isopropanol verdünnt
- Entwickeln: 32 s
- Stoppbad: 15 s in Isopropanol
- Trocknen mit Stickstoff

Die belichtete Maske kann mit *Chromätze* (MicroChemicals GmbH, Ulm) geätzt werden.

## Anhang C

# Optische Lithographie

zur Vorbereitung der IDT-Strukturen.

- Lack: Microposit S1813 (Shipley GmbH, Stuttgart)
- Lackschleuder: 5 s 800 U/min, 30 s 5000 U/min
- Prebake: 30 min/90°C
- Belichten: 22 s
- Entwickeln: 30 s in Entwickler (Microposit E351, 1:5 mit Wasser verdünnt)
- Stoppbad: 15 s in Wasser
- Trocknen mit Stickstoff

## Anhang D

# Metallisierung

zur Herstellung der IDT-Strukturen

- Vorbereitete Substrate in Sauerstoffplasma für 60 s bei 400 W behandeln, P=500 mTorr
- Elektronenstrahlverdampfen von 10 nm Ti (Haftschicht), 50 nm Au, 10 nm Ti. Aufdampfraten  $< 0,2 \text{ nm/s}$
- Zuleitungen mit Al-Folie oder Lack abdecken
- Sputtern der SiO<sub>2</sub>-Schutzschicht, P=170 W, 60 Minuten

# Literaturverzeichnis

- [1] ALAOUIE, Ali M. ; SMIRNOV, Alex I.: Cooperativity and kinetics of phase transitions in nanopore-confined bilayers studied by differential scanning calorimetry. In: *Biophys J* 88 (2005), Nr. 2, S. L11–L13
- [2] AVANTI POLAR LIPIDS INC.: (website). <http://www.avantilipids.com>
- [3] BALLANTINE, David S.: *Acoustic wave sensors: theory, design, and physico-chemical applications*. Academic Press, 1997
- [4] BAYERL, T. M. ; BLOOM, M.: Physical properties of single phospholipid bilayers adsorbed to micro glass beads. A new vesicular model system studied by <sup>2</sup>H-nuclear magnetic resonance. In: *Biophys J* 58 (1990 Aug), Nr. 2, S. 357–362
- [5] BAYERL, Thomas M.: A glass bead game. In: *Nature* 427 (2004 Jan 8), Nr. 6970, S. 105–106
- [6] BEHME, Gerd: *Rasterkraftmikroskopische Untersuchung hochfrequenter akustischer Oberflächenwellenfelder*, Humboldt-Universität Berlin, Diss., 2000
- [7] BERG, Howard C.: *Random walks in biology*. Princeton University Press, 1993
- [8] BORGNIS, F. E.: Acoustic Radiation Pressure of Plane Compressional Waves. In: *Rev. Mod. Phys.* 25 (1953), Nr. 3, S. 653–664
- [9] BRÄUCHLE, Christoph ; RELLER, Armin ; SCHNEIDER, Stefan-Werner ; WIXFORTH, Achim ; SCHNEIDER, Matthias F.: *Biological Responses to Nanoscale Particles - NPBIOMEM - Bioactivity and cellular uptake of distinct nanoparticles in uman endothelial cells*. [http://www.spp1313.de/website/cluster/cluster/npbioem{}\\_64/de\de{\\_%}npbioem{}\\_univer{}\\_1.php](http://www.spp1313.de/website/cluster/cluster/npbioem{}_64/de\de{_%}npbioem{}_univer{}_1.php)

- [10] BRIAN, A. A. ; MCCONNELL, H. M.: Allogeneic stimulation of cytotoxic T cells by supported planar membranes. In: *Proc Natl Acad Sci USA* 81 (1984), Nr. 19, S. 6159–6163
- [11] CALABRESE, Gary S. ; WOHLTJEN, Hank. ; ROY, Manas K.: Surface acoustic wave devices as chemical sensors in liquids. Evidence disputing the importance of Rayleigh wave propagation. In: *Analytical Chemistry* 59 (1987), Nr. 6, S. 833–837
- [12] CEVC, Gregor (Hrsg.): *Phospholipids handbook*. Marcel Dekker, Inc., 1993
- [13] CHEMEXPER.COM: <http://www.chemexper.com/>. <http://www.chemexper.com/>, Abruf: 17.05.2009
- [14] COLANDER, Runar: Ernst Overton - Ein Nachruf. In: *Protoplasma* 20 (1933), Nr. 1
- [15] CUBERES, MT ; BRIGGS, GAD ; KOLOSOV, O: Nonlinear detection of ultrasonic vibration of AFM cantilevers in and out of contact with the sample. In: *Nanotechnology* 12 (2001), MAR, Nr. 1, S. 53–59
- [16] DATTA, Supriyo: *Surface Acoustic Wave Devices*. Prentice Hall, 1996
- [17] DFG: *Biological Responses to Nanoscale Particles*. <http://www.spp1313.de>
- [18] ECKART, Carl: Vortices and Streams Caused by Sound Waves. In: *Phys. Rev.* 73 (1948), Jan, Nr. 1, S. 68–76
- [19] FAROKHZAD, Omid C. ; KHADEMHOSEINI, Ali ; JON, Sangyong ; HERMANN, Aurelia ; CHENG, Jianjun ; CHIN, Curtis ; KISELYUK, Alice ; TEMPLY, Benjamin ; ENG, George ; LANGER, Robert: Microfluidic system for studying the interaction of nanoparticles and microparticles with cells. In: *Anal Chem* 77 (2005 Sep 1), Nr. 17, S. 5453–5459
- [20] FILLAFER, Christian ; RATZINGER, Gerda ; NEUMANN, Jürgen ; GUTTENBERG, Zeno ; DISSAUER, Silke ; LICHTSCHEIDL, Irene K. ; WIRTH, Michael ; GABOR, Franz ; SCHNEIDER, Matthias F.: An Acoustically-Driven Biochip - Impact of Flow on the Cell-Association of Targeted Drug Carriers. In: *Lab Chip (akzeptiert)* (2009)
- [21] FORSCHUNGSZENTRUM KARLSRUHE GMBH: *Projekt NanoCare*. <http://www.nanopartikel.info>

- [22] FREUDENBERG, J. ; SCHICKFUS, M. von ; HUNKLINGER, S.: A SAW immunosensor for operation in liquid using a SiO<sub>2</sub> protective layer. In: *Sensors and Actuators B: Chemical* 76 (2001), Nr. 1-3, S. 147–151
- [23] FROMMELT, Thomas: *Mischen und Sortieren mit SAW-Fluidik in Simulation und Experiment*, Universität Augsburg, Diss., 2007
- [24] FROMMELT, Thomas ; KOSTUR, Marcin ; WENZEL-SCHAFER, Melanie ; TALKNER, Peter ; HÄNGGI, Peter ; WIXFORTH, Achim: Microfluidic mixing via acoustically driven chaotic advection. In: *Physical Review Letters* 100 (2008), Nr. 3
- [25] GERMISHUIZEN, W. A. ; WALTI, C. ; TOSCH, P. ; WIRTZ, R. ; PEPPER, M. ; DAVIES, A. G. ; MIDDELBERG, A. P. J.: Dielectrophoretic manipulation of surface-bound DNA. In: *IEE Proc Nanobiotechnol* 150 (2003), Nr. 2, S. 54–58
- [26] GIMSA, J.: A comprehensive approach to electro-orientation, electrodeformation, dielectrophoresis, and electrorotation of ellipsoidal particles and biological cells. In: *Bioelectrochemistry* 54 (2001), Nr. 1, S. 23–31
- [27] GRATE, J. W. ; MARTIN, S. J. ; WHITE, R. M.: Acoustic Wave Microsensors (Part 1). In: *Anal. Chem.* 65 (1993), S. 940A–948A
- [28] GREEN, N. G. ; MORGAN, H.: Dielectrophoretic separation of nanoparticles. In: *J. Phys. D: Appl. Phys.* 30 (1997), S. L41–L84
- [29] GRONEWOLD, Thomas M. A.: Surface acoustic wave sensors in the bioanalytical field: recent trends and challenges. In: *Anal Chim Acta* 603 (2007), Nr. 2, S. 119–128
- [30] GROVES, J. T. ; BOXER, S. G.: Electric field-induced concentration gradients in planar supported bilayers. In: *Biophys J* 69 (1995), Nr. 5, S. 1972–1975
- [31] GROVES, J. T. ; BOXER, S. G. ; MCCONNELL, H. M.: Electric field-induced reorganization of two-component supported bilayer membranes. In: *Proc Natl Acad Sci USA* 94 (1997), Nr. 25, S. 13390–13395
- [32] GROVES, J. T. ; BOXER, S. G. ; MCCONNELL, H. M.: Electric field-induced critical demixing in lipid bilayer membranes. In: *Proc Natl Acad Sci USA* 95 (1998), Nr. 3, S. 935–938



- [33] GROVES, J. T. ; ULMAN, N. ; BOXER, S. G.: Micropatterning fluid lipid bilayers on solid supports. In: *Science* 275 (1997), Jan, Nr. 5300, S. 651–653
- [34] GUTTENBERG, Zeno ; MÜLLER, Helena ; HABERMULLER, Heiko ; GEISBAUER, Andreas ; PIPPER, Jurgen ; FELBEL, Jana ; KIELPINSKI, Mark ; SCRIBA, Jurgen ; WIXFORTH, Achim: Planar chip device for PCR and hybridization with surface acoustic wave pump. In: *Lab Chip* 5 (2005), Nr. 3, S. 308–317
- [35] HAUSSCHILD, Stephan ; LIPPRANDT, Ute ; RUMPLECKER, Anja ; BORCHERT, Uwe ; RANK, Anja ; SCHUBERT, Rolf ; FÖRSTER, Stephan: Direct Preparation and Loading of Lipid and Polymer Vesicles Using Inkjets. In: *Small* 2 (2005), Nr. 12, S. 1177–1180
- [36] HEIMBURG, Thomas: *Thermal Biophysics om Membranes*. Wiley-VCH, 2007
- [37] HENNIG, Martin ; NEUMANN, Jürgen ; WIXFORTH, Achim ; RÄDLER, Joachim O. ; SCHNEIDER, Matthias F.: Dynamic Patterns in a Supported Lipid Bilayer Driven by Standing Surface Acoustic Waves. In: *Lab Chip (eingereicht)* (2009)
- [38] HOCHREIN, Marion B. ; LEIERSEDER, Judith A. ; GOLUBOVIC, Leonardo ; RÄDLER, Joachim O.: DNA Localization and Stretching on Periodically Microstructured Lipid Membranes. In: *Phys. Rev. Lett.* 96 (2006), Nr. 3, S. 038103
- [39] HUGHES, B. D. ; PAILTHORPE, B. A. ; WHITE, L. R. ; SAWYER, W. H.: Extraction of membrane microviscosity from translational and rotational diffusion coefficients. In: *Biophys J* 37 (1982), Nr. 3, S. 673–676
- [40] JACKSON, John D.: *Classical Electrodynamics*. Wiley and Sons, 1998
- [41] JONES, Thomas B.: *Electromechanics of Particles*. Cambridge University Press, 1995
- [42] KAUFMANN, K. ; SILMAN, I.: The induction by protons of ion channels through lipid bilayer membranes. In: *Biophys Chem* 18 (1983), Nr. 2, S. 89–99
- [43] KINO, Gordon S.: *Acoustic Waves: Devices, Imaging, and Analog Signal Processing: Devices, Imaging and Analog Signal Processing*. Prentice-Hall, 1987

- [44] KLERK, J D.: Past, Present and Future of Surface Elastic Waves. In: *Journal de Physique* (1972), S. 182–188
- [45] KOLOSOV, O. ; YAMANAKA, K.: Nonlinear Detection of Ultrasonic Vibrations in an Atomic Force Microscope. In: *Japanese Journal of Applied Physics Part 2-Letters* 32 (1993), Aug, Nr. 8A, S. L1095–L1098
- [46] KOSE, Volmar (Hrsg.) ; WAGNER, Siegfried (Hrsg.): *Kohlrausch, Praktische Physik, Band 3*. 24. Teubner Verlag, 1996
- [47] KUTSCHERA, H. J.: *Lineare und nichtlineare akustophotoelektrische Wechselwirkung - Oberflächenwellen und photogenerierte Ladungsträger in Halbleiterquantenstrukturen*, Ludwig-Maximilians-Universität München, Diss., 2003
- [48] L D LANDAU, E M L.: *Lehrbuch der theoretischen Physik - Band 7 - Elastizitätstheorie*. Verlag Harri Deutsch, 1991
- [49] LANDOLT, Hans H. ; BÖRNSTEIN, Richard: *Landolt-Börnstein-Tabellenwerk Zahlenwerte und Funktionen aus Physik, Chemie, Astronomie, Geophysik und Technik*. Springer, 1960
- [50] LÄNGE, Kerstin ; RAPP, Bastian E. ; RAPP, Michael: Surface acoustic wave biosensors: a review. In: *Anal Bioanal Chem* 391 (2008), Nr. 5, S. 1509–1519
- [51] LASIC, D. D.: The mechanism of vesicle formation. In: *Biochem J* 256 (1988), Nov, Nr. 1, S. 1–11
- [52] LEE, A. G.: Lipid phase transitions and phase diagrams. I. Lipid phase transitions. In: *Biochim Biophys Acta* 472 (1977 Aug 9), Nr. 2, S. 237–281
- [53] LIDTHILL, Sir J.: Acoustic streaming. In: *Journal of Sound and Vibration* 61 (1978), Nr. 3, S. 391–418
- [54] LINSEISEN, F. M. ; HETZER, M. ; BRUMM, T. ; BAYERL, T. M.: Differences in the physical properties of lipid monolayers and bilayers on a spherical solid support. In: *Biophys J* 72 (1997 Apr), Nr. 4, S. 1659–1667
- [55] LIPOWSKY, R ; SACKMANN, E: *Structure and dynamics of membranes*. Elsevier Science, 1995
- [56] LUBLINER, Jacob: *Plasticity Theory*. University of California at Berkeley : <http://www.ce.berkeley.edu/~coby/plas/pdf/book.pdf>, 2006

- [57] MARTIN, S. J. ; RICCO, A. J.: Effective Utilization of Acoustic Wave Sensor Responses: Simultaneous Measurement of Velocity and Attenuation. In: *Ultrasonics Symposium 1989* IEEE, 1989 (Proceedings), S. 621–625
- [58] MCCONNELL, H. M. ; WATTS, T. H. ; WEIS, R. M. ; BRIAN, A. A.: Supported planar membranes in studies of cell-cell recognition in the immune system. In: *Biochim Biophys Acta* 864 (1986), Nr. 1, S. 95–106
- [59] MERKEL, R. ; SACKMANN, E. ; EVANS, E.: Molecular friction and epitactic coupling between monolayers in supported bilayers. In: *Journal de Physique* 50 (1989), Jun, S. 1535–1555
- [60] MORONEY, R.M. ; WHITE, R.M. ; HOWE, R.T.: Fluid motion produced by ultrasonic Lamb waves. In: *Ultrasonics Symposium, 1990. Proceedings., IEEE 1990* (1990), S. 355–358 vol.1
- [61] MÜLLER, C. ; NATEPROV, A. A. ; OBERMEIER, G. ; KLEMM, M. ; TIDDECKS, R. ; WIXFORTH, A. ; HORN, S.: Surface acoustic wave investigations of the metal-to-insulator transition of  $V_2O_3$  thin films on lithium niobate. In: *Journal of Applied Physics* 98 (2005), Nr. 8, S. 084111
- [62] NAGLE, J. F. ; TRISTRAM-NAGLE, S.: Structure of lipid bilayers. In: *Biochim Biophys Acta* 1469 (2000), Nr. 3, S. 159–195
- [63] NEWTON, Isaac: *Newtons Principa - The mathematical priciples of natural philosophy*. Daniel Adee, 1846
- [64] NIEMCZYK, T. M. ; MARTIN, S. J. ; FRYE, G. C. ; RICCO, A. J.: Acousto-electric interaction of plate modes with solutions. In: *Journal of Applied Physics* 64 (1988), Nr. 10
- [65] NISSEN, J. ; GRITSCH, S. ; WIEGAND, G. ; RÄDLER, J. O.: Wetting of phospholipid membranes on hydrophilic surfaces – Concepts towards self-healing membranes. In: *European Physical Journal B* 10 (1999), S. 335–344
- [66] OSTRO, Marc J.: *Liposomes: from biophysics to therapeutics*. Dekker, 1987
- [67] PARTHASARATHY, Raghuveer ; YU, Cheng-han ; GROVES, Jay T.: Curvature-modulated phase separation in lipid bilayer membranes. In: *Langmuir* 22 (2006), Nr. 11, S. 5095–5099

- [68] POCKRAND, Iven: *Optische Eigenschwingungen in dünnen Schichten mit periodisch gestörter Oberfläche*, Universität Hamburg, Diss., 1976
- [69] RÄDLER, J. O. ; STREY, H. ; SACKMANN, E.: Phenomenology and Kinetics of Lipid Bilayer Spreading on Hydrophilic Surfaces. In: *Langmuir* 11 (1995), Nr. 11, S. 4539–4548
- [70] RAND, R. P. ; PARSEGAN, V. A.: Hydration forces between phospholipid bilayers. In: *Biochim Biophys Acta (Review)* 988 (1989), S. 351–376
- [71] RATHGEBER, A. ; STROBL, C. ; KUTSCHERA, H. J. ; WIXFORTH, A.: *Planar microfluidics - liquid handling without walls*. arXiv, 2001
- [72] RAYLEIGH: On Waves Propagated along the Plane Surface of an Elastic Solid. In: *Proceedings of the London Mathematical Society* (1885), November, S. 4–11
- [73] REICH, Christian ; HORTON, Margaret R. ; KRAUSE, Bärbel ; GAST, Alice P. ; RÄDLER, Joachim O. ; NICKEL, Bert: Asymmetric structural features in single supported lipid bilayers containing cholesterol and GM1 resolved with synchrotron X-Ray reflectivity. In: *Biophys J* 95 (2008), Nr. 2, S. 657–668
- [74] RICCO, A. J. ; MARTIN, S. J. ; ZIPPERIAN, T. E.: Surface acoustic wave gas sensor based on film conductivity changes. In: *Sensors and Actuators* 8 (1985), Oct, S. 319–333
- [75] ROBERTS, G. G.: An applied science perspective of Langmuir-Blodgett films. In: *Advances in Physics* 34 (1985), Nr. 4, S. 475–512
- [76] ROCKE, C. ; ZIMMERMANN, S. ; WIXFORTH, A. ; KOTTHAUS, J. P. ; BÖHM, G. ; WEINMANN, G.: Acoustically Driven Storage of Light in a Quantum Well. In: *Applied Physics Letters* 78 (1997), Nr. 21, S. 4099–4102
- [77] ROTTER, M. ; KALAMEITSEV, A. V. ; GOVOROV, A. O. ; RUILE, W. ; WIXFORTH, A.: Charge Conveyance and Nonlinear Acoustoelectric Phenomena for Intense Surface Acoustic Waves on a Semiconductor Quantum Well. In: *Phys. Rev. Lett.* 82 (1999), Nr. 10, S. 2171–2174
- [78] ROYER, D ; DIEULESAINT, E: *Elastic waves in solids I - Free and Guided Propagation*. Springer, 2000
- [79] ROYER, Daniel ; DIEULESAINT, Eugene: *Elastic Waves in Solids II - Generation, Acousto-optic Interaction, Applications*. Springer Berlin, 2000

- [80] SACKMANN, E: *Biophysik Skript E22*. 1996. – 4. Auflage
- [81] SACKMANN, E.: Supported membranes: scientific and practical applications. In: *Science* 271 (1996), Nr. 5245, S. 43–48
- [82] SAUERBREY, Günter: Verwendung von Schwingquarzen zur Wägung dünner Schichten und zur Mikrowägung. In: *Zeitschrift für Physik A* 155 (1959), April, Nr. 2
- [83] SCHÄFER, Arne ; SALDITT, Tim ; RHEINSTÄDTER, Maikel C.: *Atomic force microscopy (AFM) study of thick lamellar stacks of phospholipid bilayers*. arXiv:0706.0196v1, 2007
- [84] SCHNEIDER, Matthias F. ; GUTTENBERG, Zeno ; SCHNEIDER, Stefan W. ; SRITHARAN, Kumudesh ; MYLES, Vanessa M. ; PAMUKCI, Umut ; WIXFORTH, Achim: An Acoustically Driven Microliter Flow Chamber on a Chip (uFCC) for Cell-Cell and Cell-Surface Interaction Studies. In: *ChemPhysChem* 9 (2008), Nr. 4, S. 641–645
- [85] SCHNEIDER, S. W. ; NUSCHELE, S. ; WIXFORTH, A. ; GORZELANNY, C. ; ALEXANDER-KATZ, A. ; NETZ, R. R. ; SCHNEIDER, M. F.: Shear-induced unfolding triggers adhesion of von Willebrand factor fibers. In: *Proc Natl Acad Sci USA* 104 (2007), Nr. 19, S. 7899–7903
- [86] SHIOKAWA, Showko ; MORIIZUMI, Toyosaka: Design of SAW Sensor in Liquid. In: *Japanese Journal of Applied Physics (Supplemental; Proc. 8th Symp. Ultrason. Electron.)* 27 (1988), Nr. 1, S. 142–144
- [87] SLOBODNIK, A J. ; CONWAY, E D. ; DELMONICO, R T.: *Microwave Acoustics Handbook*. 2. Air Force System Command USAF, 1973
- [88] SMITH, Ana-Suncana ; SENGUPTA, Kheya ; GOENNENWEIN, Stefanie ; SEIFERT, Udo ; SACKMANN, Erich: Force-induced growth of adhesion domains is controlled by receptor mobility. In: *Proc Natl Acad Sci USA* 105 (2008), Nr. 19, S. 6906–6911
- [89] SRITHARAN, K. ; STROBL, C. J. ; SCHNEIDER, M. F. ; WIXFORTH, A. ; GUTTENBERG, Zeno von: Acoustic mixing at low Reynold's numbers. In: *Applied Physics Letters* 88 (2006), 02, Nr. 054102
- [90] STELZLE, M. ; MIEHLICH, R. ; SACKMANN, E.: Two-dimensional microelectrophoresis in supported lipid bilayers. In: *Biophys. J.* 63 (1992), S. 1346–1354

- [91] STROBL, C. J. ; SCHÄFLEIN, C. ; BEIERLEIN, U. ; EBBECKE, J. ; WIXFORTH, A.: Carbon nanotube alignment by surface acoustic waves. In: *Applied Physics Letters* 85 (2004), Nr. 8, S. 1427–1429
- [92] STROBL, Christoph: *Mikro- und Nanofluidik auf piezoelektrischen Substraten*, Ludwig-Maximilians-Universität München, Diss., 2005
- [93] TAN, Ming K. ; FRIEND, James R. ; YEO, Leslie Y.: Microparticle collection and concentration via a miniature surface acoustic wave device. In: *Lab Chip* 7 (2007), Nr. 5, S. 618–625
- [94] VERMA, Ayush ; UZUN, Oktay ; HU, Yuhua ; HU, Ying ; HAN, Hee-Sun ; WATSON, Nicki ; CHEN, Suelin ; IRVINE, Darrell J. ; STELLACCI, Francesco: Surface-structure-regulated cell-membrane penetration by monolayer-protected nanoparticles. In: *Nature Materials* 7 (2008), Nr. 7, S. 588–595
- [95] WARNER, A. W. ; ONOE, M. ; COQUIN, G. A.: Determination of Elastic and Piezoelectric Constants for Crystals in Class (3m). In: *The Journal of the Acoustical Society of America* 42 (1967), Nr. 6, S. 1223–1231
- [96] WATWE, Ramchandra M. ; BELLARE, Jayesh R.: Manufacture of liposomes: A review. In: *Current Science* 68 (1995), April, Nr. 7, S. 715–724
- [97] WEIS, R. S. ; GAYLORD, T. K.: Lithium niobate: Summary of physical properties and crystal structure. In: *Applied Physics A: Materials Science and Processing* 37 (1985), August, Nr. 4, S. 191–203
- [98] WHITE, R. M. ; VOLTMER, F. W.: Direct Piezoelectric Coupling to Surface Elastic Waves. In: *Applied Physics Letters* 7 (1965), December, Nr. 12, S. 314–316
- [99] WHITE, Richard M.: Acoustic Sensors for Physical, Chemical and Biochemical Applications. In: *IEEE International Frequency Control Symposium* (1998), S. 588–594
- [100] WIXFORTH, Achim: Acoustically driven planar microfluidics. In: *Superlattices and Microstructures* 33 (2003), Nr. 5-6, S. 389 – 396
- [101] WIXFORTH, Achim ; STROBL, Christoph ; GAUER, Ch. ; TOEGL, A. ; SCRIBA, J. ; GUTTENBERG, Z. von: Acoustic manipulation of small droplets. In: *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 379 (2004), Aug, Nr. 7-8, S. 982–991

- [102] WOOD, C. D. ; EVANS, S. D. ; CUNNIGHAM, J. E. ; O'RORKE, R. ; WÄLTI, C. ; DAVIES, A. G.: Alignment of particles in microfluidic systems using standing surface acoustic waves. In: *Applied Physics Letters* 92 (2008), Jan, Nr. 4, S. 44104 1–3

## Anhang E

# Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde am Lehrstuhl *Experimentalphysik I* der Universität Augsburg durchgeführt. An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

- Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. Achim Wixforth, der mir die Möglichkeit gab in den vielfältigen Bereich akustischer Oberflächenwellen einzutauchen. Seine herzliche Art und sein stets offenes Ohr sorgten dafür, dass mir die Arbeit am Lehrstuhl stets viel Freude bereitet hat.
- Mein herzlicher Dank gilt auch Herrn Dr. Matthias Schneider, dem es gelang mich für die spannende Welt der Biophysik zu begeistern. Danken möchte ich ihm auch für all die anregenden Diskussionen, die mir stets eine wertvolle Hilfestellung gaben und neue interessante Aspekte zu Tage brachten.
- Bedanken möchte ich mich auch bei Herrn Professor Dr. Joachim Rädler. Er hat meine Arbeit begleitet, unterstützt, und sich spontan bereit erklärt die Begutachtung zu übernehmen.
- Herzlichen Dank möchte ich auch meinem lieben Kollegen Martin Hennig aussprechen. Ohne ihn wären weite Teile dieser Arbeit nicht möglich gewesen.

Mein Dank gilt auch allen Mitarbeitern, die durch freundschaftliche und kollegiale Art stets für ein angenehmes Arbeitsklima sorgen. Obwohl eine namentliche Nennung immer auch die Gefahr birgt, doch jemanden zu vergessen, möchte ich mich bei folgenden Personen besonders bedanken:

- Meinen lieben Kollegen und Freunden Stefan Völk, Stefan Nuschele, Rolf Anders und Marcin Maleca, die stets für gute Laune sorgten.



- Josef Griesbauer für seine wertvollen Simulationen zur Membrantmischung und dem angenehmen Ideenaustausch.
- Nils Reinke und Jörg Frischeisen, für den regen Austausch zu Oberflächenplasmonen, die leider nicht mehr in diese Arbeit einfließen konnten.
- Mein Dank geht auch an Funda Cevik, Andreas Spörhase, Sidonie Lieber, Olga Ustinov, Pouya Vaziri und Alexander Hupfer für die organisatorische und technische Unterstützung.
- Nicht zuletzt danke ich ganz herzlich Katrin Ohrem für ihr Verständnis und ihre Geduld.

# Lebenslauf

Name	Jürgen Neumann
Geburtsdatum	11. Februar 1974
Geburtsort	Augsburg
Familienstand	ledig

## Schul Ausbildung

1980-1986	Grund- und Hauptschule Fischach-Langenneufnach
1986-1990	Christoph-von-Schmid Realschule Thannhausen
1990-1992	Fachoberschule Krumbach

## Wehrdienst

1992-1993	Wehrdienst
-----------	------------

## Studium

1993-1998	Studium der Physikalischen Technik an der Fachhochschule Ravensburg-Weingarten Diplomarbeit bei der Robert-Bosch GmbH Stuttgart mit dem Thema: "Mikromechanischer Silizium-Schwingspiegel"
-----------	---

## Beruf

1998-1999	Entwicklungsingenieur des TZM Göppingen tätig für die Robert-Bosch GmbH Stuttgart
-----------	--

## Studium

1999-2005	Studium der Physik an der Universität Augsburg Nebenfach: Betriebswirtschaftslehre Diplomarbeit am Lehrstuhl für Experimentalphysik 1 mit dem Thema: "Gitterinduzierte Oberflächenplasmonen für biosensorische Anwendungen"
-----------	--

seit 2005	Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Lehrstuhl für Experimentalphysik 1 der Universität Augsburg
seit 2006	Mitglied im Internationalen Doktorandenkolleg Nano-Bio-Technologie (IDK-NBT) des Elitenetzwerks Bayern
2006-2007	Stipendiat des IDK-NBT